Thesis Jena

Aus der Universitäts-Augenklinik zu Jena.

588391

Studien über immunisatorische, insbesondere phagocytäre Vorgänge am Auge.

Habilitationsschrift

zur Erlangung der venia legendi

einer hohen medizinischen Fakultät

der Universität zu Jena

vorgelegt von

Dr. Martin Zade

Assistent an der Universitäts-Augenklinik zu Jena.

Sonderabdruck aus „v. Graefe's Archiv für Ophthalmologie"

LXXV. Band, 1. Heft.

Leipzig

Wilhelm Engelmann

1910.

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA40153718_0054

Studien über immunisatorische, insbesondere phagocytäre Vorgänge am Auge.

Die bisherigen Arbeiten über die Immunitätsverhältnisse des Auges haben sich im allgemeinen an die Methoden und Wege der serologischen Forschungen gehalten. Erst von wenigen Seiten ist begonnen worden, die jüngsten Erfahrungen auf dem Gebiet der Phagocytoseforschung auf das Auge zu übertragen und die Bedeutung phagocytärer Vorgänge am Auge zu studieren.

Diese Tatsache erklärt sich aus dem Umstand, dass die Metschnikoffsche Phagocytenlehre lange Zeit, besonders in Deutschland, ohne Anerkennung blieb. Erst in den letzten Jahren ist ihr grössere Aufmerksamkeit geschenkt worden. Wenn auch sicherlich die Zahl derjenigen, welche in dem Vorgang der Phagocytose die alleinige oder wenigstens die Hauptursache bei der natürlichen und der künstlichen Immunität sehen, nicht sehr gross ist, so haben doch die neueren Anschauungen, besonders die Opsonin- und die Aggressintheorie, bewirkt, dass mit der scharfen Trennung zwischen humoraler und cellulärer Lehre gebrochen wurde.

Die Versuche und Beobachtungen an den einzelnen Teilen des Sehorgans, welche unter Ausschaltung von Phagocytose-Studien gemacht worden sind, haben eindeutig ergeben, dass das Auge an immunisatorischen Vorgängen Anteil nimmt. Die Untersuchungen, welche den Gegenstand der vorliegenden Arbeit bilden, haben zur Aufgabe, die Bedeutung phagocytärer Vorgänge für das Auge zu studieren und auch durch Versuche am Auge einigen strittigen Fragen der Phagocytenlehre näher zu treten.

Wie oben angedeutet, ist ein wesentliches Ergebnis neuerer Immunitätsforschungen eine Richtung, welche die Schutzkräfte des Orga-

nismus weder allein in den Körpersäften noch ausschliesslich in cellulären Vorgängen sucht; vielmehr neigt man allgemein der Auffassung zu, dass beides, Phagocytose und im Serum enthaltene Kräfte, eine Bedeutung für den Schutz des Körpers haben. Der erste Anfang, der Metschnikoffschen Theorie eine mächtige Stütze zu geben, war durch diejenigen Forscher gemacht worden, welche sich näher mit der Zusammenwirkung von Körperzellen und Körperflüssigkeit befassten, und hier sind in erster Linie die Beobachtungen von Denys und Leclef[1]) zu nennen. Diese beiden konnten nachweisen, dass zum Zustandekommen von Phagocytose die Anwesenheit von Blutserum erforderlich ist. Durch Zurückgreifen auf diese Versuche und den weiteren Ausbau ihrer Methoden ist dann die Lehre von den Opsoninen entstanden. Während nun die Opsonintheorie von vornherein dem Studium der Phagocytose entsprungen ist, hat sich eine andere, ebenfalls als vermittelnd zwischen humoraler und cellulärer Anschauung aufzufassende Lehre mehr aus den Methoden und Auffassungen serologischer Forschungen entwickelt. Das ist die Aggressintheorie.

1. Die Opsonintheorie.

Das besondere Verdienst, den von Denys und Leclef eingeschlagenen Weg erfolgreich weiter gegangen zu sein, gebührt Wright und seinen Mitarbeitern. Die wesentlichsten Punkte, durch die sich die Wrightsche Lehre charakterisiert, sind folgende:

1. Nicht nur das Blut künstlich immunisierter Tiere — nur an solchen hatte man bisher gearbeitet —, sondern auch das normale menschliche Blutserum hat Phagocytose befördernde Eigenschaften.

2. Das normale Blutserum verliert, wenn es höheren Temperaturen ausgesetzt wird, diese Fähigkeit: Thermolabilität.

3. Während ein Beweis dafür, dass es die Leukocyten sind, welche bei der Phagocytose durch im Serum enthaltene Stoffe (Stimuline) zu erhöhter Fresstätigkeit angeregt werden, noch nicht erbracht ist, steht es fest, dass eine Einwirkung auf die Bakterien vorhanden ist, indem diese durch im Serum enthaltene Stoffe (Opsonine) so vorbereitet werden, dass sie von den Leukocyten leichter aufgenommen werden können.

4. Die Opsonine sind spezifisch.

Die ersten drei dieser Hauptpunkte der Opsoninlehre können als

[1]) Zentralbl. f. Bakteriol. Abt. 1. Bd. XXIV. S. 685 und La Cellule 1895.

feststehend betrachtet werden und sind nicht mehr Gegenstand von Kontroversen. Höchstens besteht noch in einem Punkt keine völlige Übereinstimmung, nämlich in bezug auf die Stimuline. Der Begriff der Stimuline wurde schon früh von Metschnikoff eingeführt. Er sah ja allein in der Phagocytose das Abwehrmittel des Körpers gegenüber Mikroorganismen und suchte deshalb diejenigen Tatsachen, welche dafür sprachen, dass auch den flüssigen Bestandteilen des Blutes schützende Eigenschaften zukommen (Eigenschaften, die sogar mit dem Serum übertragbar sind!), dadurch zu entkräften, dass er einerseits annahm, die serösen Schutzstoffe stammen aus den Leukocyten, anderseits aber sagte, das Serum habe bei der Immunisierung nur die Bedeutung, dass es Stoffe enthält, welche die Leukocyten zu erhöhter Fresstätigkeit anreizen, stimulieren. Diese hypothetischen Stoffe nannte er Stimuline. Nun ist aber von Wright durch Verwertung der Tatsache von der Thermolabilität der Opsonine und durch Neufeld und Rimpau durch Bindungsversuche erwiesen, dass es die Bakterien sind, welche fördernd bei der Phagocytose beeinflusst werden. Fehlt also somit der Nachweis von dem Vorhandensein der Metschnikoffschen Stimuline, so ist damit noch nicht erwiesen, dass solche Stoffe überhaupt nicht existieren. Das muss deshalb betont werden, weil die Stimuline vielfach ganz abgelehnt werden. So sagt Römer[1]), „es gibt keine Stimuline für die Leukocyten“ (S. 123), während Sauerbeck[2]), der dem Gedanken an eine Anpassungsimmunität der Gewebe sympathisch gegenübersteht, die Möglichkeit an Stimuline zu glauben nicht von der Hand weist, indem er sagt: „Auch dies soll nicht bestritten werden, dass bei der immunisatorischen Umstimmung der Leukocyten noch andere Faktoren als die der Gewöhnung an leukotoxische Komponenten der Bakteriengifte oder besondere Leukotoxine im Spiel sein können, am ehesten wohl Opsonine, Bakteriotropine oder Antiaggressine, vielleicht auch Stimuline“ (S. 989).

Mit der Feststellung, dass das normale Blutserum eine Phagocytose befördernde, opsonische Wirkung hat, tritt natürlich die Frage auf: hat die opsonische Kraft des Serums eine Bedeutung bei der Überwindung von Krankheiten, spielt sie eine Rolle bei der natürlichen und bei der künstlichen Immunität?

---

[1]) Römer, Experimentelle und klinische Grundlagen für die Serumtherapie der Pneumocokkeninfektion der menschlichen Cornea (Ulcus serpens). Wiesbaden 1909.

[2]) Sauerbeck, Neue Tatsachen und Theorien in der Immunitätsforschung. Lubarsch-Ostertag, Ergebnisse. XI. Jahrg. Sonderdruck, Wiesbaden 1907.

Diese Frage wird von Wright und seinen Anhängern entschieden im bejahenden Sinne beantwortet. Nach Wright büsst das Serum eines kranken Körpers an opsonischer Kraft ein und zwar sinkt die opsonische Kraft nur gegenüber demjenigen Erreger, der die Krankheit hervorgerufen hat: die Opsonine sind spezifisch.

Die Spezifität der Opsonine ist noch nicht allgemein anerkannt.

2. Die Aggressintheorie.

Es ist bei dem Studium phagocytärer Vorgänge nötig, die Anschauungen, welche die Vertreter der Aggressintheorie verfechten, ebenso zu kennen wie die der Opsoninanhänger. Denn bei beiden liegt der Schwerpunkt darauf, dass als Hauptfaktor bei der Immunität die Phagocytose zu betrachten ist, dass aber auch andere Vorgänge eine wichtige, die Phagocytose vorbereitende Rolle spielen.

Ebenso wie Wright für seine Arbeiten Vorgänger hatte, ist auch schon vor Bail, der als Begründer der Aggressintheorie anzusehen ist, der für seine Anschauungen grundlegende Gedanke erörtert worden. Schon im Jahre 1893 sprach Kruse[1]) die Vermutung aus, dass die Infektiosität eines Keimes nicht allein darauf beruhe, dass der infizierte Körper keine oder nicht ausreichende Schutzstoffe zur Verfügung habe, sondern er sagt, das Bacterium selbst sondere einen Stoff ab, der als eine Art Angriffsstoff aufzufassen sei, indem er die Schutzstoffe des Körpers unwirksam mache. Diese Angriffsstoffe bezeichnete Kruse mit dem Namen Lysine. Kruse stand dabei ganz auf dem Boden der humoralen Immunitätslehre, indem er sich vorstellte, dass seine Lysine sich gegen die Antikörper richteten, dass eine Immunisierung durch Bildung von Antilysinen zu stande käme. Bail aber nimmt an, dass bei der Immunisierung sich Gegenangriffsstoffe bilden, dass dann die definitive Vernichtung der Bakterien durch die Leukocyten stattfindet. Die Angriffsstoffe nannte Bail auf den Vorschlag Kruses Aggressine.

Wir haben also in den Aggressinen insofern ein Gegenstück zu den Opsoninen, als diese die Bakterien zur Phagocytose vorbereiten, jene aber diejenigen Stoffe vernichten, welche der Phagocytose hinderlich sind. Die Aggressine aber hindern nicht nur die Phagocytose — in der Ausschaltung der Phagocytose soll ja ihre Aggressivität bestehen — sie sind auch im stande, im Körper zur Bildung von Antiaggressinen anzuregen. Wenn nun aber die Aggressine nur dadurch

[1]) Kruse, Zieglers Beitr. zur allg. Pathol. u. pathol. Anat. Bd. XII. 1893.

aggressiv wirken, dass sie die Phagocytose verhindern, so müssen logischerweise die Antiaggressine diese fördern. Also sind die Opsonine identisch mit den Antiaggressinen.

Es muss nun noch einer dritten Theorie gedacht werden, da sie unabhängig von den andern aufgestellt wurde. Sie hat am meisten Beziehungen zur Opsonintheorie.

3. Die Bacteriotropintheorie.

Neufeld und Rimpau, die Begründer der Bacteriotropintheorie, kamen zu ihren Anschauungen, indem sie die Versuche von Denys und Leclef aufnahmen, also mit Immunseris arbeiteten. Wright hat, wie erwähnt, sich hauptsächlich mit normalen Seris beschäftigt. So sind denn Neufeld und Rimpau unabhängig von Wright zu der Überzeugung gelangt, dass in den Immunseris bei Abwesenheit bakteriolytischer Eigenschaften Stoffe enthalten sind, welche die Bakterien phagocytabel machen. Diese Stoffe, welche wir nach dem Gesagten als Immunopsonine im Gegensatz zu den Normalopsoninen zu bezeichnen hätten, sind thermostabil. Ihre Entdecker halten sie nicht für identisch mit den Wrightschen Opsoninen.

Das grosse Aufsehen, welches die Wrightschen Arbeiten gemacht haben, ist zweifellos darauf zurückzuführen, dass er seine Studien gleichzeitig mit klinischen Beobachtungen durchgeführt hat und dass er die Ansicht verfochten hat, die Opsoninlehre sei von grosser klinischer Bedeutung. Wenn wirklich die genannten Hauptgrundsätze dieser neuen Theorie als feststehend anzuerkennen sind, so liegt die eminente klinische Bedeutung des Ganzen auf der Hand. Insbesondere muss die Spezifität der Opsonine ein wertvolles klinisches Mittel werden, da man sie als wichtiges Diagnosticum verwerten kann. Denn wenn die Opsonine spezifisch sind, so braucht man zur Stellung der Diagnose, d. h. zur Feststellung des Krankheitserregers, nur die opsonische Kraft des Serums zu prüfen, um denjenigen Erreger zu finden, gegen den am wenigsten Opsonine vorhanden sind. Das wird in den meisten Fällen nicht schwer sein, da bei den meisten Krankheitsbildern nur eine geringe Zahl von Bakterien in Frage kommen. Aber auch zur Überwachung therapeutischer Massnahmen, zur Beurteilung des Verlaufs einer Krankheit, zur Stellung der Prognose muss die Opsoninuntersuchung besonders wertvoll sein. In der Tat ist ja von Wright ein ganzes System ausgebildet worden, um die Opsoninuntersuchung klinisch in dem eben angedeuteten Sinne zu verwerten.

Da in den hier zu beschreibenden Versuchen zum

grössten Teil die Wrightsche Technik angewandt wurde, so muss auf dieselbe näher eingegangen werden.

Ihre Entstehung verdankt diese Technik den Bemühungen Leishmans[1]), an dem Blute von Kranken festzustellen, ob im Verlauf von Infektionen grössere oder geringere Phagocytose zu finden sei. Zu diesem Zwecke fügte er einem zu untersuchenden Blutstropfen eine Aufschwemmung von Bakterien hinzu, setzte dieses Gemisch, das sich auf einem Objektträger, von einem Deckglas bedeckt, fand, eine kurze Zeit der Brutofentemperatur aus, untersuchte dann mikroskopisch, ob und in welchem Masse die Bakterien von den in dem Blutstropfen enthaltenen Leukocyten aufgenommen waren. Leishman ging hierbei von der Annahme aus, dass es Stimuline gibt, welche im Serum enthalten sind und auf die Leukocyten zu erhöhter Fresstätigkeit anregend wirken. Wright vervollkommnete diese Methode nun in besonders geistvoller Weise. Erstens untersuchte er nicht das Blut in seiner Gesamtheit, sondern jeden Teil für sich. Das Serum zu gewinnen, ist ja sehr einfach: man braucht nur eine gewisse Blutmenge stehen zu lassen, es setzt sich dann das Serum oben ab. Zur Serumgewinnung benützt Wright dünne Röhrchen, die an beiden Enden zu einer Kapillare ausgezogen sind; das eine Ende ist umgebogen und wird nach Einstich in die Haut — es wird gewöhnlich dicht über dem Nagel in das Endglied des Daumens gestochen — zum Aufsaugen angesetzt. Zur Gewinnung der Blutkörperchen fängt man einige Blutstropfen in einer Lösung von 1,5 % Natrium citricum auf, wodurch der Eintritt von Gerinnung verhindert wird; eine Schädigung der Blutkörperchen findet dabei sicher nicht statt. Durch Zentrifugieren[2]) werden die corpusculären Elemente wieder gesammelt, dann werden sie durch Waschen mit physiologischer Kochsalzlösung von allen Serumresten gereinigt und durch Zentrifugieren wieder isoliert. Hat man somit Serum und Blutkörperchen, jedes für sich, gewonnen, so braucht man nur eine geeignete Aufschwemmung von den zu untersuchenden Bakterien diesen beiden Teilen hinzuzufügen. Das tut Wright aber nicht wie Leishman auf dem Objektträger, sondern er zieht von jedem Teil ein kleines Quantum in einer Kapillare auf, die das Ende einer mit einer Gummipipette abgeschlossenen Glasröhre bildet. Um nun von den drei Teilen genau gleiche Teile aufsaugen zu können, wird etwa einen Centimeter vom Ende der Kapillare entfernt mit einem Fettstift eine kleine Marke angebracht, und von jedem der drei zu mischenden Teile genau bis zur Marke angezogen, indem zwischen jedem neuen Stoff eine Luftblase freigelassen wird. Dann wird das Ganze auf einen Objektträger ausgeblasen, durch mehrmaliges Ein- und Aussaugen innig gemischt, zum Schluss in der Kapillare eingeschmolzen und eine Zeitlang Brutofentemperatur ausgesetzt. Zum Schluss

[1]) Nach Sauerbeck, loc. cit.

[2]) Zum Zentrifugieren muss die geringste Zentrifugalkraft und die geringste Zeit angewandt werden, die nötig sind, um die corpusculären Elemente sich absetzen zu lassen. Ich benützte eine Zentrifuge mit 1000 Umdrehungen in der Minute, die nötige Zeit betrug durchschnittlich 4—5 Minuten. Längeres Zentrifugieren schädigt die Leukocyten.

wird das Gemisch wieder auf einen Objektträger ausgeblasen, ausgestrichen, gefärbt und untersucht.

Es ist klar, dass Leishman mit seiner Methode nicht im stande war, zu entscheiden, in welchem Teile des Blutes eine mehr oder weniger Phagocytose steigernde Kraft enthalten ist. Mit der Wrightschen Methode aber lässt sich leicht feststellen, dass das Serum diese Fähigkeit hat. Der Beweis ist leicht zu erbringen, indem man das Serum durch physiologische Kochsalzlösung ersetzt, worauf die vorher beobachtete Phagocytose in den meisten Fällen[1]) ausbleibt. Anderseits kann man die Leukocyten eines jeden beliebigen Individuums benützen, ohne dadurch eine Änderung in dem Grad der Phagocytose zu erzielen. Ferner lässt sich so auch feststellen, dass die im Serum wirksamen Kräfte nicht die Leukocyten nachweislich beeinflussen, sondern vielmehr die Bakterien so vorbereiten, „opsonieren", dass sie aufnahmefähiger werden. Wenn man nämlich Serum und Leukocyten eine Zeitlang einer Brutofentemperatur aussetzt, so binden die Bakterien das im Serum enthaltene Opsonin, sie sind phagocytabler geworden, während es bisher nicht gelungen ist, Leukocyten durch Bindung eines im Serum enthaltenen Stoffs (Stimulin) aufnahmefähiger zu machen. Wright hat übrigens nicht diesen Weg eingeschlagen, der zuerst von Neufeld und Rimpau gewählt wurde, sondern er benützte die Tatsache der Thermolabilität der Opsonine zum Nachweis der auf die Bakterien gerichteten Wirkung. Er stellte fest, dass eine Erhitzung des Gemisches Serum + Bakterien die Vermehrung der Phagocytose nicht mehr hindern kann, wenn die Bakterien schon vorher mit dem Serum zusammen in Berührung waren, wenn sie schon opsoniert waren. Um die Untersuchung der Präparate zu erleichtern, ist später von einem Mitarbeiter Wrights empfohlen worden, die Leukocyten alle an einer Stelle des Objektträgers zusammenzubringen. Das gelingt auch mehr oder weniger gut, wenn man den Tropfen des aus der Kapillare ausgeblasenen Gemisches mit einem andern Objektträger ausstreicht, der an der schmalen Seite einen leicht konkaven Rand hat[2]). Die Leukocyten sammeln sich dann am Rande des Ausstriches an. Um nun einen Massstab für die opsonische Kraft eines Serums zu haben, werden die Bakterien gezählt, die von einer Anzahl Leukocyten aufgenommen sind. Im allgemeinen werden hundert Leukocyten gezählt. Die Zahl, welche angibt, wie viele Bakterien durchschnittlich von jedem Leukocyten gefressen sind — wenn hundert gezählt wurden = hundert dividiert durch die Anzahl der aufgenommenen Bakterien —, ist die phagocytische Zahl. Die phagocytische Zahl des Patientenserums wird dann mit der eines oder besser dem Durchschnitt mehrerer normaler verglichen, die sich ergebende Verhältniszahl ist der opsonische Index.

Das Bemerkenswerteste für die Verwendbarkeit dieser Unter-

---

[1]) Von Spontanphagocytose wird später die Rede sein.

[2]) Es empfiehlt sich nicht, denselben Objektträger zum Ausstreichen lange Zeit zu benützen, da der konkave Rand eine ganz scharfe Kante haben muss; je schärfer und glatter diese ist, um so besser gelingt es, gute Leukocytenleisten herzustellen.

suchungsmethode ist der Umstand, dass sehr geringe Unterschiede in der opsonischen Fähigkeit der Sera von klinischer Bedeutung sein sollen. Nach Wright schwankt der opsonische Index des normalen Menschen für Tuberkelbacillen zwischen 0,8 und 1,2. Von der grossen Anzahl der Nachuntersucher hat sich nur ein kleiner Teil von dieser Tatsache überzeugen können. Baecher und Laub[1]) betonen, dass so kleine Anschläge bei der Subtilität der Technik nicht als Indikatoren für therapeutische Massnahmen gelten können, da schon beim Auszählen der Präparate Fehler bis zu 10 % vorkommen; auch sei es nicht möglich, eine so ideal gleichmässige Emulsion von Tuberkelbacillen herzustellen, dass alle Leukocyten gleichmässig Gelegenheit haben zu fressen. Auch fanden sie bei Vergleichen der klinischen Bilder mit dem opsonischen Index keine sinngemässe Übereinstimmung. Zu analogen Resultaten kamen viele andere wie Beyer[2]), Jürgens[3]), Reyn und Kjer-Petersen[4]), Saathof[5]), der bei Gesunden grosse Schwankungen des Index fand, Schorer[6]), Simon[7]), der selbst Vorschläge zur Verbesserung der Technik macht, Rolly[8]), Verf.[9]) u. A. Es sind aber auch, besonders in der ersten Zeit, eine Reihe Autoren sehr für die Methode eingetreten. In jüngster Zeit haben noch Fornet und Porter[10]) ihre Meinung dahin ausgesprochen, dass der opsonische Index tatsächlich nur um einen Ausschlag von 0,4 bei Normalen schwankt. Ebendasselbe hat Stock[11]) in einer jüngeren klinischen Arbeit angegeben. Aber diese konstante Höhe des Index ist nicht das einzige Ergebnis der Wrightschen Untersuchungen. Wie oben bei der Beschreibung der Leishmanschen Bemühungen gesagt, war der Ausgangspunkt der Opsoninforschungen die klinische Untersuchung. Das Blutserum des Kranken wurde von Anfang an mit dem von Gesunden verglichen. Und zwar beschäftigte sich Wright

[1]) Baecher u. Laub. Wiener klin. Wochenschr. Nr. 44. S. 1514. 1908.

[2]) Beyer. Deutsche med. Wochenschr. Nr. 8. S. 334. 1909.

[3]) Jürgens. Berl. klin. Wochenschr. Nr. 13. 1908.

[4]) Reyn u. Kjer-Petersen. Lancet. Bd. LXXXVI, 1. S. 919 u. 1000. 1908.

[5]) Saathof. Münch. med. Wochenschr. 1908. S. 779.

[6]) Schorer. Studies from the Rockefeller Institut for medic. Research. Vol. VIII. 1908.

[7]) Simon. Ebenda. 1908. S. 487.

[8]) Rolly. Mitteil. aus d. Grenzgeb. d. Med. u. Chir. Bd. XIX, 2. 1908.

[9]) Zade. Zeitschr. f. Immunit. u. exper. Therapie. Bd. II, 1. 1909.

[10]) Fornet u. Porter. Zentralbl. f. Bakt. (Orig.) Bd. XLVIII, 4. S. 461 1908 u. Bd. LI, 2. S. 138. 1909.

[11]) Stock. Klin. Monatsbl. f. Augenheilk. Novemberheft 1909.

schon lange mit Bemühungen, durch aktive Immunisierung, nämlich durch Einspritzen geringer Mengen abgetöteter Bakterien die Bildung von Antikörpern anzuregen. Die Bestimmung des opsonischen Index sollte nun eine Kontrolle sein für die therapeutischen Massnahmen. Er hatte nämlich gefunden, dass der bei seinen Patienten niedere Index — nieder nur für den spezifischen Erreger der betreffenden Krankheit — durch Einspritzung abgetöteter Bakterien sich hob, dass dann eine negative Phase eintrat, welche ein langsames Ansteigen bis zur Norm, die mit der Heilung zusammenfiel, folgte.

Es hat doch den Anschein, als ob eine genaue Nachprüfung aller dieser Angaben recht wenig Anhänger hat, jedenfalls aber ist eine allgemeine klinische Verwertung der Opsoninbestimmung bisher noch nicht im entferntesten erreicht.

Da die praktisch-klinische Verwertung der Opsoninbestimmung der Ausgangspunkt für die meisten Nachuntersucher gewesen ist, haben wohl die meisten, welche die Wrightschen Angaben nicht bestätigen konnten, das ganze Verfahren wieder aufgegeben. Und doch leistet die minutiöse Technik, die eine Fülle von Vorteilen gegenüber andern bietet, für das Phagocytosestudium ausserordentliche Dienste. Meines Wissens wird sie aber zu diesem Zwecke nur von wenigen [Fornet und Porter[1]), Verf.[1])] angewandt.

Die in den meisten Laboratorien geübte Art, um das Wesen der Phagocytose zu studieren, besteht darin, dass tierische Leukocyten in dicker Aufschwemmung tropfenweise in kleine, sogenannte Serumröhrchen gebracht werden; dann wird, ebenfalls nach Tropfen abgezählt, die Bakterienemulsion und das opsonische Serum hinzugefügt. Dieses Gemisch kommt dann für eine Zeit, die gewöhnlich nach einigen Stunden bemessen ist, in den Brutofen, dann werden Ausstriche angefertigt, gefärbt und untersucht. Der Grad der eingetretenen Phagocytose wird abgeschätzt; „keine", „geringe", „mittelstarke" oder „kräftige" Phagocytose sind die gewöhnlichen Bezeichnungen für die Resultate der Versuche.

Was zunächst die Beschaffung der Leukocyten anbetrifft, so geht man meist in der Weise vor, dass man einem Meerschweinchen Aleuronat in die Bauchhöhle spritzt, einige nehmen als Reizmittel nur Kochsalzlösung [Fornet und Porter[1]), Römer[1])]. Nach etwa zwölf Stunden wird das Tier durch Entbluten getötet, die Bauchhöhle eröffnet und mit steriler physiologischer Kochsalzlösung ausgespült. Diese

[1]) Loc. cit.

Lösung, in der dann eine Unmenge der durch den Reiz der vorhergegangenen Einspritzung angelockten Leukocyten suspendiert ist, wird zentrifugiert, die Leukocyten werden dann, nachdem von dem Zentrifugat das Obenstehende abgegossen worden ist, noch gründlich mit Kochsalzlösung gewaschen, wieder zentrifugiert und sind so gebrauchsfertig.

Bei der Wrightschen Technik werden, wie oben gesagt, menschliche Leukocyten verwandt. Das ist, wenn nicht besondere Untersuchungen an tierischen Zellen vorgenommen werden sollen, im allgemeinen sehr vorteilhaft. Jedenfalls ist die Möglichkeit, menschliche Leukocyten zu verwenden, von grosser Bedeutung für die Grundlagen der Opsoninforschung, da an ihnen nachgewiesen wurde — also auch für sie unbedingte Bedeutung hat —, dass die Leukocyten bei Indexbestimmungen gewissermassen eine Konstante bilden, dass nur dem Serum die Stoffe innewohnen, welche unserer Untersuchung zugänglich sind. Ferner ist zu betonen, dass bei dem Wrightschen Verfahren in jedem Präparat nur eine verhältnismässig geringe Anzahl von Leukocyten zur Untersuchung kommt, dass man also in der Lage ist, alle oder doch fast alle Leukocyten, welche bei dem Versuche mitgearbeitet haben, zu berücksichtigen, während bei der beschriebenen üblichen Laboratoriumsmethode das ganze Präparat ausschliesslich Leukocyten enthält, so dass es immer einer gewissen Willkür unterliegt, ob man als Resultat kräftige oder geringe Phagocytose annehmen will. Wenigstens wird man nur ganz deutliche Unterschiede anerkennen können. Ja sogar, wenn gar keine Phagocytose gefunden wurde, ist es doch nicht ausgeschlossen, dass irgendwo im Präparat ganz gut phagocytiert worden ist, wenn nicht wirklich das ganze Präparat mit dem Kreuztisch durchgesucht wurde. Um so leichter kann so vereinzelte aber doch kräftige Phagocytose übersehen werden, als nach den Beobachtungen von Neufeld die mit Bakterien angefüllten Leukocyten sich vielfach zusammenballen.

Ein weiterer sehr wesentlicher Vorteil der Wrightschen Technik ist die Möglichkeit, mit ganz kleinen Mengen zu arbeiten. Gerade bei Untersuchungen am Auge ist das von besonderem Vorteil, weil es schwer hält, grössere Mengen Materials zu erhalten. Ganz unmöglich wäre es z. B., das Vorderkammerwasser gleichzeitig auf Opsonine und auf baktericide Stoffe zu untersuchen, was bei Anwendung der Wrightschen Technik sehr gut gelingt. Auch zur Untersuchung von Tränenflüssigkeit ist es angenehm, mit geringen Mengen auskommen zu können. Ein weiterer Vorzug der Wrightschen Technik

ist die Möglichkeit, mit verhältnismässig kurzen Brutofenzeiten auszukommen. In besonderen Fällen, die besonders genannt werden, habe ich auch vorgezogen, längere Brutofenzeiten anzuwenden.

Vielfach wird der Wrightschen Technik ihre Schwierigkeit und zeitraubende Umständlichkeit vorgeworfen, so dass der praktische Kliniker gar nicht in der Lage sei, die Methode dauernd ohne besondere Hilfe durchzuführen. Nur Rolly sagt, dass er die Technik nicht für schwierig halte, er scheint sie nur nach Beschreibungen erlernt zu haben. Sicher ist, dass die Technik sehr fein durchdacht und aufs sorgfältigste ausgearbeitet ist und dass eine genaue Erlernung derselben am besten in einem geeigneten Laboratorium erlangt wird.

Was über die Subtilität der Wrightschen Technik als feststehend zu gelten hat, kann natürlich in erster Linie nur Anwendung finden auf wirkliche Indexbestimmungen. Wenn man aber die Technik verwendet, um in besonderen Versuchsreihen festzustellen, ob unter dieser oder jener Bedingung überhaupt Phagocytose stattfindet oder nicht, so fallen manche Schwierigkeiten der Methode weg. Beispielsweise hat, um das vorwegzunehmen, das Vorderkammerwasser im allgemeinen keine opsonische Wirkung. Wenn man aber nach Ablassen des Kammerwassers bis zum Ersatz des zweiten wartet, so hat dieses deutliche opsonische Kraft. In diesem Falle bedarf es also keiner subtilen Zählung, es wird eben nur festgestellt, ob Phagocytose eingetreten ist oder nicht. Soll aber in einem Versuche festgestellt werden, ob unter verschiedenen Bedingungen mehr oder weniger starke Phagocytose eingetreten ist, so wird man nur dann Unterschiede anerkennen, wenn sie ganz deutlich zutage treten. Denn die feinen Ausschläge, welche mit der Wrightschen Auszählung zu erhalten sind, sind noch zu sehr strittig, als dass man aus ihnen Schlüsse ziehen könnte, für die gar kein Vergleichsobjekt vorhanden ist. Bei der klinischen Indexbestimmung werden stets verschiedene Sera auf ihre opsonische Kraft hin geprüft, Leukocyten und Bakterienemulsion sollen dabei möglichst konstant sein. Menschenleukocyten eignen sich sehr gut zu den Versuchen, doch konnte ich mich überzeugen, dass auch tierische Leukocyten nach dem Wrightschen Verfahren Verwendung finden können. Folgender Versuch zeigt, dass Mäuseleukocyten ganz gut phagocytieren. Es sind hier die phagocytischen Zahlen angegeben, also die Zahlen, welche angeben, wieviel Bakterien jeder Leukocyt durchschnittlich aufgenommen hat.

1.	Leukoc.	Z.	+	Ser.	Z.	+	Pneumoc.	A 1/2	St. 37,5°
2.	„	Maus	+	„	Maus	+	„	A 1/2	„ 37,5°
3.	„	„	+	„	Z.	+	„	A 1/2	„ 37,5°
4.	„	Z.	+	„	Maus	+	„	A 1/2	„ 37,5°
5.	„	Z.	+	physiol.		+			
6.	„	Maus	+	*NaCl*-Lsg.		+	„	A 1/2	„ 37,5°

Ergebnis, phagocytische Zahlen:

1. 2,2
2. 1,3
3. 1,52
4. 1,52
5. 0,05
6. 0,00

Die Mäuse-Leukocyten haben also sowohl die von menschlichem als auch von Mäuseserum opsonierten Cokken gefressen. In einem andern Versuch, der mit demselben Pneumococcus A ausgeführt wurde, trat mit tierischen Leukocyten keine Phagocytose ein, sobald menschliches Serum zur Opsonierung verwandt wurde.

1.	Leukoc.	Z.	+	Ser. Z.	+ Pneumoc. 37,5° 20 Min.
2.	„	„	+	phys. *NaCl*	
3.	„	Kaninchen	+	Ser. Kaninchen	
4.	„	Meerschw.	+	„ Meerschw.	
5.	„	Maus	+	„ Maus	
6.	„	Kaninchen			
7.	„	Meerschw.	+	„ Z.	
8.	„	Maus			

Ergebnis:

1. Sehr starke Phagocytose, von 50 Zellen sind 38 vollgepfropft, 6 Zellen haben mässig, 6 gar nicht gefressen.
2. 0,04, d. h. minimale Phagocytose.
3. Ungefähr = 1.
4. Sehr starke Phagocytose, von 50 Zellen haben 42 gut gefressen.
5. Ungefähr = 1.
6. Phag. Zahl = 0,06
7. „ „ = 0,05
8. „ „ = 0,8.

An diesem Versuch zeigt sich auch die Berechtigung, von der Auszählung der phagocytischen Zahlen absehen zu können, wenn nicht der opsonische Index bestimmt werden soll und wenn die Unterschiede so in die Augen springend sind wie hier. Umgekehrt habe ich bei Verwendung von Tierserum und Menschenleukocyten nie eine Hemmung der Phagocytose gesehen.

Endlich habe ich auch Leukocyten aus der Bauchhöhle des Meer-

schweinchens mit menschlichen verglichen, die letzteren in der Wrightschen Weise gewonnen.

1. Leukoc. Z. + Ser. Z.		+ Pneumoc. 37,5° 20 Min.
2. „ „ + phys. *NaCl*		
3. Aleuronat-Leukoc. aus der Bauchhöhle des Meerschw.	+ Ser. Z.	
4. „ „ „ „ „	+ phys. *NaCl*	

Ergebnis:

1. Sehr starke Phagocytose, alle Zellen haben gefressen, die meisten sind vollgepfropft.
2. Minimale Phagocytose.
3. Von 133 Leukocyten haben 20 gefressen.
4. Keine Phagocytose.

Das Präparat mit den Aleuronat-Leukocyten bot bei der für diese Technik üblichen Art der Abschätzung das Bild einer sehr starken Phagocytose. Es tritt aber hier deutlich zutage, wie angenehm es ist, mit Wrightschen Leukocyten zu arbeiten, man gewinnt schneller und sicherer das Urteil über den eingetretenen Effekt. Es wird sich empfehlen, bei der Wrightschen Technik sich ganz nach der Art des Versuches zu richten, um alle Vorteile auszunützen: bei gröberen Unterschieden begnügt man sich mit der Feststellung, ob oder ob nicht Phagocytose eingetreten ist, bei feineren Ausschlägen zählt man die Zahl derjenigen Leukocyten, welche überhaupt gefressen haben[1]), und endlich, wenn nur verschiedene Flüssigkeiten untersucht werden, die sich in ihrer opsonischen Wirkung nur wenig unterscheiden, wird der Index bestimmt.

Ein wichtiger Punkt muss noch hervorgehoben werden; er betrifft die zur Verwendung kommenden Bakterien. Die ursprüngliche Bestimmung des opsonischen Index wurde ebenso wie die aktive Immunisierung mit dem Eigenstamm des Patienten vorgenommen, d. h. mit dem aus dem betreffenden Krankheitsherd gezüchteten Stamm. Litt also beispielsweise ein Patient an Furunkulose, so wurde aus dem Furunkeleiter ein Staphylococcus kultiviert. Derselbe Coccus wurde nach Abtötung in bestimmten Verdünnungen dem Patienten subcutan injiziert und derselbe Coccus wurde auch zur Bestimmung des opsonischen Index verwandt.

Nun kann man aber bei der Beschäftigung mit den Opsoninen

[1]) Simon (loc. cit.) hat ein ganzes System ausgebaut, nach welchem er statt der Wrightschen Auszählung eine prozentuale Bestimmung der an der Phagocytose beteiligten Leukocyten vorschlägt.

bald feststellen, dass sich verschiedene Bakterien sehr verschieden in bezug auf ihre Phagocytierbarkeit verhalten. Wright selbst hat eine Einteilung der Bakterien vorgenommen, die sowohl die Opsonierbarkeit als auch die Widerstandsfähigkeit gegen bakteriolytische Eigenschaften zusammenfasst. Besonders zugänglich für die opsonische Wirkung sind danach Cholera-, Typhus-Bacillen, Bacterium coli und Dysenteriebacillen, ebenso Staphylocokken, Streptocokken und Pestbacillen. Diphtherie- und Xerosebacillen sind nicht opsonierbar[1]).

Bei dieser Einteilung ist ein wichtiger Punkt nicht berücksichtigt, nämlich die Tatsache, dass in ein und derselben Bakterienart nicht alle Stämme ein gleiches Verhalten in bezug auf ihre Phagocytierbarkeit zeigen. Bei Staphylocokken habe ich allerdings ebenso wie bei Dysenteriebacillen bisher noch keine Ausnahme gefunden: Phagocytose tritt nur ein nach Serumzusatz. Spontanphagocytose ist nur sehr gering, mit Serum aber war immer Phagocytose nachweisbar. Es ist klar, dass solche Stämme, welche ohne Serum gar nicht, mit Serum aber gut phagocytabel sind, sich zur Bestimmung des opsonischen Index am besten eignen. Unter Pneumocokken und Streptocokken aber finden sich sehr häufig Stämme, welche unter keinen Umständen von den Leukocyten aufgenommen werden. Wie verschieden sich in dieser Beziehung die einzelnen Stämme verhalten, illustriert folgende Zusammenstellung.

Herkunft		Phagocytose	
		mit Serum	ohne Serum (spontan)
Streptococcus	1. Abscess	stark	stark
„	2. „	„	minimal
„	3. Glaskörper Panophth.	nicht	nicht
„	3. Ohreiter	sehr stark	mässig stark
„	4. „	kräftig	nicht
Pneumococcus	1. Ulcus serpens	nicht	„
„	2. Glaskörper	„	„

Diese Zusammenstellung zeigt, dass es viele Cokken gibt, die mit Normalserum gar nicht opsonierbar sind, also zur Bestimmung des opsonischen Index nicht verwandt werden können. Auch solche Stämme, welche spontan, ohne Serumzusatz, phagocytiert werden, sind natürlich ungeeignet.

Nun ist aber die vorhandene oder nicht vorhandene Phagocytierbarkeit nicht etwa eine bestimmte, unveränderliche Eigenschaft eines

[1]) Sauerbeck (loc. cit.) hat allerdings auch für Diphtheriebacillen Opsonierbarkeit festgestellt.

Stammes. Vielmehr kann ein Bakterienstamm seine Phagocytierbarkeit ändern, wenn er durch Tierpassagen verändert wird. Ich[1]) konnte für Streptocokken und Pneumocokken nachweisen, dass die Phagocytierbarkeit der Stämme durch Tierpassagen nicht nur überhaupt abnimmt, sondern dass die Abnahme der Phagocytierbarkeit progressiv fortschreitet mit jeder weiteren Tierpassage. Auch Römer[1]) teilt in seiner letzten Arbeit mit, dass ein Pneumocokkenstamm nach einmaliger Tierpassage aphagocytabel wurde.

Diese Umstände müssen berücksichtigt werden, wenn bestimmte Körperflüssigkeiten auf ihren Opsoningehalt hin untersucht werden sollen. Nach dem Gesagten eignen sich am besten Staphylocokken und Dysenteriebacillen, von Streptocokken und Pneumocokken — letztere sind ja nur als eine oft sogar schwer abzugrenzende Unterart der Streptocokken aufzufassen — nur diejenigen Stämme, welche nach besonderen Versuchen als phagocytabel im Serum, nicht phagocytabel in physiologischer Kochsalzlösung befunden wurden. Nur für Untersuchungen auf Bakteriotropine wird man Stämme verwenden, welche im Normalserum nicht phagocytiert werden, in der Annahme, dass das Immunserum eine Phagocytose herbeiführt.

Der erste Teil der hier mitzuteilenden Untersuchungen ist der Frage nach dem Opsoningehalt des normalen und des besonderen Eingriffen unterworfenen Auges gewidmet.

Es folgen hier einige Untersuchungen über die opsonische Wirkung der Tränen und des Vorderkammerwassers.

Die Tränenflüssigkeit.

Über die keimtötende Fähigkeit der Tränen sind vielfach Versuche angestellt worden. Wenn auch von einigen Autoren ein positiver Ausfall der Versuche angegeben wird, so scheint doch eine wesentliche baktericide Kraft den Tränen nicht zuzukommen.

Einen gewissen Grad von Baktericidie fanden Bernheim[2]), Bach[3]), Marthen[4]) und Helleberg[5]).

Bernheim untersuchte die baktericide Kraft der Tränen auf Staphylocokken und auf Bacillus subtilis. Er fand eine wachstum-

[1]) Loc. cit.

[2]) Bernstein. Beitr. zur Augenheilk. Heft 8. S. 61. 1893.

[3]) Bach. Arch. f. Ophth. Bd. LX, 3. S. 130. 1894.

[4]) Marthen. Beitr. zur Augenheilk. Bd. XII. 1893.

[5]) Helleberg. Mitteil. aus d. Augenkl. d. kgl. med.-chir. Inst Stockholm. Heft 3 (Ref. Nagels Jahresber.).

hemmende Wirkung nur dann, wenn er mit geringen Bakterienmengen arbeitete. Kontrollversuche mit physiologischer Kochsalzlösung ergaben, dass diese die keimtötenden Eigenschaften nicht hat. Marthen fand für die meisten der am äusseren Auge bekannten Mikroorganismen keimtötende Kraft, die er in 26 Versuchen feststellte. Bach stellte 112 Versuche an und zwar mit Staphylococcus pyogenes aureus und albus, mit Typhusbacillen, mit Kieler Wasser-Bacillen und mit Sarcine aurantiaca, die beiden letzteren mit negativem Ergebnis. Das Vorhandensein einer gewissen baktericiden Kraft, die Bach in den Tränen gefunden hat, führt er nicht wie Marthen auf das in ihnen enthaltene Serumalbumin zurück, sondern auf den Salzgehalt. Nach seinen Untersuchungen ist schon physiologische Kochsalzlösung im stande, Keime in der Entwicklung zu hemmen. Trotz des positiven Ausfalls seiner Versuche nimmt Bach an, dass der physiologische Wert der Tränen weniger im Unschädlichmachen von Bakterien durch Abtötung als vielmehr durch mechanisches Fortschwemmen zu sehen sei. Mit Staphylocokken hat auch Helleberg gearbeitet, er hält wie Marthen die in den Tränen enthaltenen Eiweissstoffe für die Ursache der keimtötenden Kraft, da höhere Temperaturen diese Kraft aufheben. Keine bakterieide Kraft der Tränen fand Ahlström[1]), ebenso van Genderen[2]), der mit Bacterium coli arbeitete, ferner de Bono und Frisco[3]), Römer[4]), Axenfeld[5]), der mit Gono- und Pneumocokken Versuche angestellt hat, endlich zur Nedden[6]), der mit Typhus-, Dysenterie- und Diplobacillen gearbeitet hat. Aber auch von den Autoren, welche mit positivem Ausfall Versuche über bakterieide Kraft der Tränen angestellt haben, wird zugegeben, dass dieselbe doch nur ganz gering sei.

Meine eigenen Versuche bezweckten hauptsächlich, festzustellen, ob die Tränen[7]) Opsonine enthalten. Vorher wurden jedoch erst einige

[1]) Ahlström. Zentralbl. f. prakt. Augenheilk. 1895. S. 193.

[2]) van Genderen. Arch. f. Hyg. Bd. XIII. 1891.

[3]) de Bono u. Frisco. Bollett. d. società sicil. d'igiena p. u. Arch. di Ottalmol. VII.

[4]) Römer. Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh. Bd. XXXII. 1899.

[5]) Axenfeld, Die Bakteriologie in der Augenheilkunde. Jena 1907.

[6]) Zur Nedden. Arch. f. Ophth. Bd. LXV. S. 267. 1907.

[7]) Die Tränen wurden gewonnen, indem eine nicht zu dünne Glaskapillare, die aus einem Glasrohr, das mit Saugpipette montiert war, gezogen war, in den unteren Conjunctivalsack gelegt wurde. Der Patient schliesst dabei die Lider, der leichte mechanische Reiz genügt, um einige Tropfen leicht zu gewinnen. Zur Verwendung kamen Tränen von einem Kind mit fast geheilter skrofulöser Augenentzündung (mehrmals), von einer Patientin mit komplizierter Katarakt

Versuche[1]) gemacht, die die keimtötende Kraft der Tränen zum Gegenstand hatten. Zur Verwendung kamen Staphylocokken (aus der Bindehaut bei Conjunctivitis catarrhalis), Pneumocokken (aus Hornhautgeschwür), Streptocokken (Panophthalmie) und Dysenteriebacillen (Typus Kruse-Shiga). Letztere sowie ein auf diese eingestelltes Dysenterie-Serum verdanke ich der Güte der Herren Prof. Kruse und Dr. Bürgers in Königsberg.

Es erübrigt sich, die genauen Aufzeichnungen über die Versuche wiederzugeben, da in keinem Falle irgendeine besondere keimtötende Wirkung zutage trat.

Die opsonischen Versuche, welche ich mit den Tränen anstellte, führten ebenfalls zu einem vollständig negativen Resultat. Zur Verwendung kamen dieselben Bakterien wie die zu den Baktericidieprüfungen verwandten.

Damit steht die allgemein gültige Auffassung im Einklang, dass der physiologische Wert der Tränen den Mikroorganismen gegenüber nur dadurch gegeben ist, dass sie für eine mechanische Fortschwemmung der Bakterien sorgen. Am klarsten tritt diese Tatsache zutage bei denjenigen Hornhautgeschwüren, welche notorisch nach Verlegung der Tränenabflusswege im Anschluss an geringfügige Verletzungen entstehen. Die Tränenflüssigkeit ist nicht nur nicht im stande, die in den Abflusswegen stagnierenden Bakterien abzutöten, sie ist auch ein guter Brutplatz. Beobachtungen, welche Valude[2]) an Tuberkelbacillen gemacht hat, sind nicht als beweiskräftig anerkannt [Gourfin[3]). Axenfeld[4])].

---

und von einigen Normalen. Die Tränenflüssigkeit war meist klar, wurde jedoch sowohl zentrifugiert und nicht zentrifugiert benützt.

[1]) Die hierbei angewandte Technik ist die für Baktericidieversuche übliche. Die Tränenflüssigkeit (meist drei Tropfen) wird mit ein paar Tropfen Nährbouillon, in welcher die betreffenden Bakterien fein verteilt sind, eine Zeitlang, drei Stunden, in den Brutofen gebracht. Dann wird eine Platinöse der Mischung auf ein verflüssigtes und auf 45° abgekühltes Agarröhrchen verteilt, der Agar zu einer Platte ausgegossen, nach Erstarren in den Brutofen gestellt. Nach etwa 24 Stunden wird die Zahl der auf der Platte angegangenen Kolonien gezählt. Zur Kontrolle wurde eine andere Platte gegossen, nachdem statt der zu untersuchenden Tränenflüssigkeit physiologische Kochsalzlösung verwandt wurde. Eine andere Kontrolle diente zur Feststellung, wie viele Keime überhaupt zur Aussaat gelangten. Deshalb wurde sofort ein Röhrchen mit Bakterien allein zum Ausgiessen einer Platte verwandt. Die genaue Beschreibung der Technik findet sich bei zur Nedden (loc. cit.).

[2]) Valude. Zeitschr. f. Augenheilk. Bd. II, Beilageheft. 1899.

[3]) Gourfin. Arch. d'opht. Bd. XIX. S. 362—440.

[4]) Loc. cit.

Das Kammerwasser.

Viel grösseres Interesse als den Tränen ist dem Vorderkammerwasser in bezug auf Gehalt an Antikörpern entgegengebracht worden. Von der Tränenflüssigkeit konnte man von vornherein vermuten, dass ihre physiologische Wirkung mit der Tätigkeit mechanischen Fortschwemmens begrenzt sei. Anders liegt es beim Humor aqueus. Bei der Selbstheilung von Hornhautgeschwüren treten in der Hornhautsubstanz so eigenartige Verhältnisse auf — der Lebersche Infiltrationsring usw. —, dass sicher auch das Kammerwasser Umwandlungen erfahren muss, die von Belang für den Ablauf des entzündlichen Prozesses sind.

Dass das Auge überhaupt an Immunisierungsvorgängen teilnimmt, ist durch die grundlegenden Arbeiten Römers[1]) festgestellt.

„Bei lokaler Immunität braucht die allgemeine noch nicht ausgebildet zu sein, aber keine allgemeine Immunität ohne einen gewissen Grad von lokaler Immunität." Diese Worte Römers kennzeichnen seine Auffassung von der Beteiligung des Auges an der allgemeinen Immunität, die er auf Grund seiner Bemühungen, die Pneumocokkeninfektion der Hornhaut auf dem Immunisierungswege zu heilen, gewonnen hat.

Die Römerschen Arbeiten haben sich streng an die Auffassungen der Ehrlichschen Seitenkettentheorie gehalten. Aber schon vor der Herrschaft dieser bahnbrechenden Theorie sind mehrere Untersucher der Frage näher getreten, wie weit dem Kammerwasser bakterienfeindliche Wirkung zukommt.

Nuttal[2]) fand, dass das Vorderkammerwasser des Kaninchens im stande ist, virulente Milzbrandbacillen zu schädigen. Auch Buchner[3]) und Haffkine[4]) fanden im Humor aqueus bakterieide Eigenschaften. Buchner hat bei Hunden und Kaninchen mit Typhusbacillen gearbeitet, während Haffkine zu seinen Versuchen vorwiegend Typhusbacillen bei verschiedenen Tieren (Hunden, Kaninchen und Meerschweinchen) verwandte.

Von andern Untersuchern wird dem Kammerwasser eine sehr geringe oder gar keine bakterienfeindliche Kraft zugeschrieben. Zu

[1]) Arch. f. Ophth. Bd. LII. S. 72. 1901.
[2]) Nuttal. Zeitschr. f. Hyg. Bd. IV. S. 353. 1888.
[3]) Buchner. Arch. f. Hyg. Bd. X. S. 84. 1890.
[4]) Haffkine. Annales de l'Instit. Pasteur. Tom. IV. S. 363.

diesen gehören Marthen[1]), der an verschiedenen Tieraugen mit Staphylocokken arbeitete, Bach[1]), der das Kammerwasser vom Menschen und vom Schwein untersuchte, und Rymowicz[2]), der zu seinen Versuchen Cholerabacillen benutzte.

Gemeinsam ist diesen Versuchen, dass die Untersucher sich damit begnügten, das normale Kammerwasser zu prüfen, ohne sich die Frage vorzulegen: wie verhält sich das Kammerwasser, wenn das Auge durch einen Keim infiziert wird? Treten bei stattfindender Infektion bakterienfeindliche Stoffe in das Kammerwasser über, die vorher vielleicht nicht in ihm enthalten waren? Wenn das der Fall sein sollte, so müsste die Tatsache, dass das normale Kammerwasser keine oder nur geringe baktericide Kraft hat, von untergeordneter Bedeutung sein, denn nur darauf kommt es an, zu wissen, wie sich die vordere Kammer bei vorkommenden Infektionen verhält.

Die Untersuchungen, welche auf diesem fruchtbringenden Wege gemacht worden sind, wurden durch die Arbeiten von Römer[3]) und Wessely[4]) eingeleitet und wesentlich gefördert. Römer stellte fest, dass bei immunisierten Tieren auch Antikörper in das Kammerwasser übertreten. Er brachte nämlich so grosse Mengen von Diphtherietoxin in die Vorderkammer, dass eine deutliche entzündliche Reaktion entstand. Tiere, die mit Diphtherieantitoxin vorbehandelt waren, bekamen dabei gar keine oder nur eine geringe Entzündung, es mussten also Antitoxine in das Kammerwasser gelangt sein. Die gleichen Resultate ergaben sich, wenn Diphtheriebacillen in die Vorderkammer eingebracht wurden. Ebenso wie für Antitoxine brachte Römer auch den Nachweis, dass Agglutinine in den Humor aqueus übertreten.

Bei dem Römerschen Nachweis des Übertrittes von Antitoxinen in die vordere Kammer handelte es sich schon nicht mehr um die Untersuchung des normalen, sondern durch Infektion veränderten Kammerwassers, es war durch die künstliche Infektion ein Reiz gesetzt worden. Diesen Gesichtspunkt hat Wessely in mehreren experimentellen Arbeiten weiter verfolgt und dabei gefunden, dass normaler Weise keine Antikörper in das Vorderkammerwasser übertreten, erst wenn ein Reiz das Auge trifft, findet dieser Übertritt statt. Dieser

---

[1]) Loc. cit.

[2]) Rymowicz. Postep oculist. Nr. 10. 1902. Ref. Nagels Jahresber.

[3]) Römer. Arch. f. Ophth. Bd. LII. 1901; ebenda Bd. LIV. 1903.

[4]) Wessely. Berl. Klin. 1909; Arch. f. Ophth. Bd. L. S. 123. 1900; Klin. Monatsbl. f. Augenheilk. Bd. XL, 2. 1902; Münch. med. Wochenschr. Nr. 24. 1903; Deutsche med. Wochenschr. Nr. 7 u. 8. 1903.

Reiz kann beliebiger Natur sein, von besonderem Interesse sind natürlich diejenigen Arten des Reizes, welche therapeutische Verwendung finden, in erster Linie die subconjunctivalen Kochsalzinjektionen.

A. Leber[1]) konnte die Wesselyschen Befunde bestätigen und erweitern. Er immunisierte Kaninchen gegen Typhus und Cholera (aktive Immunisierung) und prüfte das Vorderkammerwasser dieser Tiere auf spezifische Agglutinine. Dabei fand er nur eine sehr geringe agglutinierende Wirkung, die aber in auffallender Weise gesteigert wurde, wenn subconjunctivale Kochsalzinjektionen voraufgegangen waren. Und zwar war es nicht nötig, sich der 5 %igen Lösung zu bedienen, wie Wessely es getan hat, es genügte schon physiologische Kochsalzlösung. Immerhin aber blieb die agglutinierende Wirkung des Kammerwassers bedeutend hinter der des Serums der immunisierten Tiere zurück. Bei passiver Immunisierung liess sich eine grössere agglutinierende Wirkung erzielen als bei aktiver. In ähnlicher Weise verhält sich nach den Experimenten Lebers das Kammerwasser in bezug auf den Gehalt an Bakteriolysinen: die Versuche hat er sowohl im Reagenzglas als auch in Anlehnung an den bekannten Pfeifferschen Versuch am lebenden Tierkörper vorgenommen.

Mit den baktericiden Substanzen des Vorderkammerwassers bei nichtimmunisierten Individuen beschäftigt sich zur Nedden[2]). Das erste Kammerwasser fand er zwar nicht baktericid, aber doch wachstumhemmend, eine Wirkung, die jedoch durch Erhitzung (Komplementzerstörung) aufgehoben wurde. Das Ablassen des Kammerwassers, subconjunctivale Injektionen und besonders entzündliche Reize wirkten fördernd auf den Übertritt der baktericiden Substanzen in das Kammerwasser. Zu seinen Versuchen benützte zur Nedden Dysenteriebacillen.

Schneider[3]) fand im zweiten Kammerwasser Opsonine für Typhusbacillen.

Für die Auffassung von dem Wert opsonischer Vorgänge ist es von besonderem Interesse, die Körperflüssigkeiten, deren Opsoningehalt zu prüfen ist, auch einer Baktericidieprüfung zu unterziehen. Ich habe deshalb auch das Kammerwasser auf Baktericidie untersucht, und zwar mit denselben Bakterien, die zu den Opsoninversuchen verwandt wurden. Das allen Versuchen gemeinsame Resultat war, dass das erste Kammerwasser weder eine baktericide noch eine opsonische Kraft hat.

Folgender Versuch illustriert das Gesagte.

[1]) Leber, A. Arch. f. Ophth. Bd. LXIV, 3. S. 413. 1906.
[2]) Loc. cit.
[3]) Schneider. Münch. med. Wochenschr. Nr. 3. S. 146. 1903.

1. Ser. Z.
2. „ Kaninchen
3. K.-W. „
4. Physiol. Kochs.-Lsg.

A. + Staphylokokken[1]) | B. + Tuberkelbacillen[2]) + Leukoc.-Z. 15 Min. 37,5°

Ergebnis:

A.	B.
1. Phag.-Zahl = 3,34	1. = 0,69
2. „ „ = 2,06	2. = 0,35
3. „ „ = 0,06	3. = 0,03
4. „ „ = 0,03	4. = 0,01

Aus diesem Versuch geht zunächst hervor, dass die opsonische Kraft des Kaninchenserums sowohl für Staphylokokken als auch für Tuberkelbacillen hinter der des menschlichen ein wenig zurücksteht.

Ein analoges Verhalten fand ich bei Vergleich der Sera fast regelmässig auch für Pneumocokken, Streptocokken und Dysenteriebacillen. Das Kammerwasser des Kaninchens hatte gar keine opsonische Wirkung, da dieselbe gleich der in der Kochsalzkontrolle eingetretenen, die als Spontanphagocytose aufzufassen ist, ausfiel. Ein mit demselben Kammerwasser angestellter Baktericidieversuch fiel negativ aus.

Der nächste Versuch zeigt einen Vergleich des ersten mit dem eine halbe Stunde nachher abgelassenen Kammerwasser.

1. Ser. Z.
2. Ser. Kaninchen
3. Erstes K.-W. Kaninchen
4. Zweites „ „
5. Dasselbe $^1/_2$ Stde. auf 58° im Wasserbad erwärmt

+ A. Staphylokokken | + B. Tuberkelbacillen + Leukoc.-Z 25 Min. 37,5°

Ergebnis: A. (Staphylokokken.)

1. Sehr starke Phagocytose, von 100 Zellen sind nur 2 leer, die andern haben gut gefressen, sind z. T. ganz vollgepfropft.
2. Fast ebenso starke Phagocytose, von 100 Zellen 6 leer.
3. Minimale Phagocytose, Phag.-Zahl = 0,02.
4. Kräftige Phagocytose, von 100 Zellen sind 31 ganz voll gefüllt, 18 sind leer, die andern haben durchschnittlich etwa je 5 Cokken aufgenommen.
5. Minimale Phagocytose. Phag.-Zahl = 0,1.

[1]) Aus der Bindehaut eines an Conjunctivitis catarrhalis leidenden Patienten gezüchtet. Wachstum auf allen Nährböden, auf Agar weisser Belag, Gelatine wird verflüssigt (Staphylococcus albus liquefaciens).

[2]) Nach Wright hergestellte Emulsion mit Bacillen der Höchster Farbwerke. Für die Indexbestimmung wäre diese Emulsion zu dünn gewesen, die Ausschläge hier sind aber deutlich genug.

B. (Tuberkelbacillen.)

1. Phag.-Zahl = 1,50
2. „ „ = 1,54
3. „ „ = 0,07
4. „ „ = 0,61
5. „ „ = 0,03

Wieder zeigt sich hier das erste Kammerwasser frei von opsonischer Wirkung, das zweite, nach einer halben Stunde gewonnene jedoch von deutlichem Einfluss. Die opsonische Kraft des zweiten Kammerwassers ist thermolabil, sie erlischt nach halbstündigem Erwärmen auf 58°.

Dieser Versuch zeigt ferner, dass die Wrightschen Vorschriften über Herstellung der Emulsionen nur für Bestimmung des opsonischen Index Geltung haben. Die hier angewandte Staphylocockenemulsion wäre für die Indexbestimmung viel zu dick gewesen, da in den Serumpräparaten eine Zählung der phagocytierten Cokken unmöglich ist. Aber hier für unsern Fall hat sich diese dicke Emulsion gerade als besonders geeignet erwiesen, denn die Abstufungen der opsonischen Wirkungen treten hier sehr deutlich und ganz einwandfrei zutage. Am meisten Opsonine hat das menschliche, etwas weniger das Serum vom Kaninchen. Das zweite Kammerwasser hat zwar deutlich opsonische Kraft, aber sie bleibt doch entschieden hinter der des Serums zurück.

Die opsonische Kraft des zweiten Kammerwassers war noch vorhanden, wenn die zweite Punktion nach $1^1/_2$ Stunden vorgenommen wurde (Staphylococken), später gleicht das zweite bald wieder dem ersten. Zu ähnlichen Resultaten gelangte auch zur Nedden[1]). Nach längerem Stehen — Aufbewahren im Eisschrank — büsst das zweite Kammerwasser an opsonischer Kraft ein, wie folgender Versuch zeigt.

1. Serum-Z.		A. + Staphylococken	+ Leukoc.-Z. 20 Min. 37,5°
2. Erstes K.-W. Kan.,	frisch		
3. Zweites „ „ (25 Min. später abgel.)	frisch		
4. Zweites K.-W. 14 Tage alt		B. + Streptococken (aus Ohreiter)	
5. Physiol. Kochsalzlösung			

Ergebnis:

A.

1. Sehr kräftige Phagocytose, fast alle Zellen ganz voll.
2. Minimale Phagocytose, Phag.-Zahl = 0,08.

[1]) Loc. cit.

3. Gute Phagocytose, von 100 Zellen haben 90 gefressen, z. T. ganz angefüllt.
4. Keine Phagocytose.
5. „ „

B.

1. Sehr starke Phagocytose, alle Zellen voll.
2. Geringe Phagocytose, von 100 Zellen haben 30 gefressen.
3. = 1.
4. = 2!
5. = 2!

Hierbei ist zu bemerken, dass das vierzehn Tage alte zweite Kammerwasser am Tage der Entnahme opsonische Kraft entfaltet hatte. Ferner sind bei B. Streptocokken zur Verwendung gekommen, welche einer gewissen Spontanphagocytose unterlagen. Es war aber immerhin ein Unterschied zwischen dieser und der durch Serumwirkung erzielten so deutlich, dass die Cokken sich zu diesem Versuch wohl eigneten[1]). In einem weiteren Versuch, den genauer wiederzugeben keine Veranlassung vorliegt, zeigte sich das zweite Kammerwasser auch nach vierzehn Tagen noch opsoninhaltig, jedoch in viel geringerem Masse als in frischem Zustande.

Auch beim Hund fand ich eine opsonische Wirkung des zweiten Kammerwassers. Die Versuche wurden vereinigt mit solchen, die die Wirkung von Dionin ergeben sollten. Das Dionin ist ja als Lymphagogon und Resorbens bekannt. In der Annahme, dass Dionin den Stoffwechsel im Auge stark anregt und zu schnellerem Flüssigkeitswechsel Veranlassung gibt, erwartete ich, dass nach Dioninwirkung auch die Opsonine in der Vorderkammer erscheinen würden.

Versuche mit Dionin am Kaninchenauge fielen ganz negativ aus, da das Dionin nicht einmal Reizung hervorruft, das Vorderkammerwasser hatte auch nach Einbringen reichlicher Dioninkrystalle in den Conjunctivalsack keine opsonische Kraft.

Auch der folgende Versuch am Hundeauge war negativ. Benutzt wurde eine zehnprozentige Lösung Dionin Merck. Einige Minuten nach Installation stellte sich Chemose ein. Eine Viertelstunde nach der Einträufelung wurde die Kammer punktiert.

1. Erstes K.-W. Hund links		
2. Zweites K.-W. Hund links	+ Leukocyten-Z.	20 Min. 37,5°
3. K.-W. $^1/_4$ Stde. nach Dioninein. rechts	+ Staphylocokken	
4. Serum-Z.		
5. Physiol. Kochsalzlösung		

[1]) Siehe S. 16.

Ergebnis:
1. Keine Phagocytose.
2. Mittelstarke Phagocytose, etwa 30% der Zellen haben gefressen.
3. Keine Phagocytose.
4. Kräftige Phagocytose, etwa 90% der Zellen haben gefressen.
5. Keine Phagocytose.

Auch hier hat das zweite Kammerwasser wie beim Kaninchen deutliche opsonische Wirkung entfaltet, sie bleibt jedoch erheblich hinter der des menschlichen Serums zurück.

In einem weiteren Versuch mit demselben Kammerwasser nach Dioninein träufelung wurde die vierfache Menge des Kammerwassers im Vergleich zu der Menge der Leukocyten- und Cokkenemulsion angewandt, aber mit demselben negativen Resultat.

Der nächste Versuch wurde dann so vorgenommen, dass einem Hund Dionin in Substanz in den Bindehautsack gebracht und bis zur Punktion zwei Stunden gewartet wurde. Die Chemose trat schon nach etwa fünf Minuten ein, war sehr stark und war nach zwei Stunden noch deutlich vorhanden. Bei dieser Gelegenheit wurde auch von dem andern Auge das erste und das zweite Kammerwasser mit untersucht. Diesmal wurden ausser Staphylocokken auch Dysenteriebacillen verwandt.

1. Serum-Z.		
2. K.-W. Hund nach Dioninwirkg. R. A.	A. + Staphyl.	+ Leukoc.-Z.
3. Erstes K.-W. Hund L. A.		
4. Zweites K.-W. Hund L. A. (20 Min. später).	B. + Dysenteriebacillen	20 Min. 37,5°
5. Physiol. NaCl.		

Ergebnis:

A.

1. Sehr starke Phagocytose, alle Zellen voll.
2. Geringe Phagocytose, von 100 Zellen haben 17 gefressen. Phag.-Zahl = 0,79.
3. Minimale Phagocytose. Phag.-Zahl = 1,14.
4. Mittelstarke Phagocytose, von 130 Zellen haben 33 gefressen. Phag.-Zahl = 1,15.
5. Minimale Phagocytose. Phag.-Zahl = 0,08.

B.

1. Alle Zellen voll.
2. Keine Phagocytose.
3. Keine Phagocytose.
4. Mittelstarke Phagocytose, von 100 Zellen haben 38 gefressen. Phag.-Zahl = 1,13.
5. Keine Phagocytose.

Also im positiven Sinne zu deuten ist nur der Dioninversuch mit Staphylocokken. Hier ist zweifellos eine opsonische Wirkung vor-

handen, wie sich aus dem Vergleich mit der Kochsalzkontrolle ergibt. Da stets grosser Wert auf sorgfältige Herstellung einer gleichmässigen Emulsion gelegt wurde, und da in allen Versuchen, die mit diesem Staphylococcus angestellt wurden, nie eine so starke Phagocytose in der Kochsalzkontrolle auftrat wie hier in dem Dioninkammerwasser, so ist entschieden anzunehmen, dass mit der Dioninwirkung ein Übertritt von Opsoninen in die vordere Augenkammer, wenn auch sehr langsam und nur in geringem Masse stattfindet.

Es war nun besonders interessant, dasselbe Kammerwasser, das zu diesem Opsoninversuch gedient hatte, auch auf seine baktericide Kraft hin zu prüfen.

1. Serum Kaninchen
2. K.-W. nach Dioninwirkung
3. Erstes K.-W. Hund
4. Zweites K.-W. Hund
5. Physiol. *NaCl*

} je 2 Tropfen

6. Kontrolle: sofort Platte, um die Zahl der in einem Tropfen enthaltenen Keime festzustellen.

Dazu je ein Tropfen einer Dysenteriebacillen-Bouillon, die Mischungen kamen 3 Stunden in den Brutschrank. Dann wurde aus jedem Röhrchen auf je ein Agarröhrchen (flüssig 45°) eine Platinöse gut verrührt und je eine Platte gegossen. Die Zahl der in 24 Stunden gewachsenen Kolonien betrug:

1. 13400
2. 12000
3. 14000
4. 150
5. 15000
6. 8900

Danach war eine deutliche keimtötende Wirkung nur bei 4. zu erkennen, das zweite Kammerwasser hat also in Übereinstimmung mit den genannten Versuchen durchweg auch beim Hund hemmenden Einfluss. Dagegen hat das Dionin dem Kammerwasser nicht zu einer nachweislichen baktericiden Kraft verholfen.

Dass subconjunctivale Kochsalzinjektionen ebenso wie andere Reize die Antikörper der Vorderkammer vermehren, oder vielmehr erst solche in die Vorderkammer hineinschaffen, hat Wessely in einer Reihe von Versuchen nachgewiesen. Mit den Opsoninen des Kammerwassers haben sich Levaditi und Inmann[1]) beschäftigt.

[1]) Levaditi u. Inmann. Compt. rend. Soc. de Biol. Paris. Bd. LXII. S. 725. 1907.

Auch sie fanden, dass das erste Kammerwasser keine opsonische Kraft hat, während im zweiten Opsonine nachweisbar sind. Bei Vergleichen der opsonischen und reaktivierenden Kraft des zweiten Kammerwassers fanden sie, dass im allgemeinen mehr Komplemente als Opsonine enthalten sind. Die Opsonine des Kammerwassers hat auch zur Nedden[1]) untersucht und dabei gefunden, dass das erste Kammerwasser keine, das zweite jedoch deutliche opsonische Wirkung hat. 4—6 Stunden nach der ersten Entnahme waren keine Opsonine mehr nachweisbar. Eine wiederholte Punktion bewirkte keine grössere Ansammlung von opsonischen Substanzen als eine einmalige. Auch nach Punktion des Glaskörpers, nach Einwirkung entzündlicher Reize, nach subconjunctivalen Injektionen wurden Opsonine im Vorderkammerwasser nachweisbar, die stets thermolabil waren. Zur Verwendung kamen gewaschene Meerschweinchenleukocyten und solche, die durch Waschen aus blennorrhoischem Sekret gewonnen waren. Das Kammerwasser stammte von Kaninchen, verschiedene Male wurde auch menschliches Kammerwasser angewandt. Bei diesen Versuchen zur Neddens treten die Nachteile der eingangs beschriebenen üblichen Methoden zu Phagocytoseversuchen klar hervor. Denn es lässt sich immer nur in groben Umrissen und nach ungefähren Schätzungen angeben, ob opsonische Wirkung gefunden wurde oder nicht. Besonders lassen sich Vergleiche der opsonischen Kraft des Kammerwassers mit der des Blutserums nur schlecht anstellen, was zur Nedden auch selbst empfunden hat, indem er von der vermehrten opsonischen Kraft des Kammerwassers schreibt, „jedoch bleibt sie, wie mir schien, immer noch etwas hinter der des Blutserums des betreffenden Individuums zurück".

Bei meinen Versuchen mit subconjunctivalen Kochsalzeinspritzungen erhielt ich nicht immer positive Resultate. Zur Anwendung kam eine 5%ige Lösung. Ein Versuch mit deutlichem positiven Ausfall ist der folgende.

1. Serum-Z. 2. Serum-Kaninchen. 3. K.-W. ½ Stde. nach subconj. Kochsalzinjektion. 4. physiol. Kochsalzlösung.	+ Leukocyten-Z. + Staphylocokken	20 Min. 37,5°

Ergebnis:

1. Sehr starke Phagocytose, alle Zellen voll.
2. Fast ebenso starke Phagocytose, die meisten Zellen voll.

[1]) Zur Nedden. Zeitschr. f. Augenheilk. Bd. XIX, 4.

3. Kräftige Phagocytose, von 100 Zellen haben 75 gefressen, ein Teil davon ist ganz von Cokken vollgefüllt.
4. Minimale Phagocytose, Phagocytenzahl = 0,4.

Dieser Versuch zeigt deutlich, dass das Kammerwasser $^1/_2$ Stunde nach einer subconjunctivalen Kochsalzinjektion Opsonine enthält, dass der Opsoningehalt aber wesentlich hinter dem des Serums zurücksteht.

Wie gesagt, fielen nicht alle diese Versuche positiv aus, doch sind die wirklichen positiven Ergebnisse beweisend dafür, dass die Injektionen unter günstigen Bedingungen eine Zunahme der opsonischen Substanzen veranlassen können. Die negativen Versuche im Verein mit denen, bei welchen nur geringe opsonische Kraft gefunden wurde — zum Vergleich ist immer das Blutserum herangezogen worden —, zeigen, dass die subconjunctivalen Injektionen eine ganz besondere Vermehrung der Opsonine jedenfalls nicht bewirken.

Menschliches Kammerwasser zu untersuchen, habe ich nur einige Male Gelegenheit gehabt.

Das erste Mal wurde bei einer Glaukomiridektomie das Kammerwasser mit einer sterilen Kapillarpipette aufgefangen und auf Opsonine mit Staphylocokken und Dysenteriebacillen untersucht. Bei dem erkrankten Auge handelte es sich um ein ausgesprochenes Glaukoma simplex, bei dem niemals irgendwie entzündliche Erscheinungen aufgetreten waren. Resultat: keine Opsonine. Das zweite Mal bot sich Gelegenheit bei einem entzündlichen Glaukom. Hier fiel der Opsoninversuch positiv aus. Sowohl Staphylocokken als auch Dysenteriebacillen wurden unter dem Einfluss des Kammerwassers opsoniert; jedoch blieb die opsonische Wirkung ganz erheblich hinter derjenigen des zur Kontrolle mituntersuchten Serums (vom Untersucher) zurück.

Ebenfalls positiv fiel der Versuch mit dem Kammerwasser aus, das nach Perforation eines schweren Streptocokkengeschwürs gewonnen wurde. Eine weitere Untersuchung mit positivem Ausfall kann nicht gezählt werden (das Kammerwasser war bei einer präparatorischen Iridektomie gewonnen), weil bei der Entnahme Blut aus den Conjunctivalgefässen in die Flüssigkeit gelangt war.

Eine Hauptstütze für die rein serologische Erklärung immunisatorischer Vorgänge bildete lange der bekannte Pfeiffersche Versuch: Nach gleichzeitigem Einbringen von Choleravibrionen und Cholera-Immunserum in die Bauchhöhle eines Meerschweinchens wird nach einiger Zeit öfter in verschiedenen Intervallen von dem in der Bauch-

höhle sich ansammelnden Exsudat ein Tropfen durch Einführung einer Glaskapillare entnommen und mikroskopisch untersucht. Dabei zeigt sich, dass die Vibrionen in sehr kurzer Zeit absterben und der Auflösung anheimfallen. In Kontrolltieren, denen nur Vibrionen ohne Immunserum eingespritzt werden, vermehren sich die Bakterien rapid und führen den Tod des Meerschweinchens herbei, während das andere Tier am Leben bleibt. Metschnikoff erkennt diese Tatsachen an, deutet sie jedoch ganz anders. Er nimmt an, dass durch das Einbringen von Vibrionen in die Bauchhöhle ein abnormer Zustand geschaffen werde, der zur Folge hat, dass das in den Leukocyten enthaltene Komplement aus den Zellen heraustritt und dann mit den Amboceptoren des Immunserums zusammen die Bakteriolyse herbeiführt. Es soll also die extracelluläre Auflösung nur die Folge einer künstlich geschaffenen Bedingung sein, die bei der natürlich verlaufenden Immunität nicht vorkommt. Metschnikoff hat sogar gefunden, dass bei dem Pfeifferschen Versuch eine intracelluläre, also durch Phagocytose bedingte Auflösung stattfindet, wenn den Versuchstieren am Tage vorher Bouillon in die Bauchhöhle injiziert wird, wodurch Leukocyten angelockt werden.

Später hat Radziewsky[1]) mit Pneumocokken analoge Versuche angestellt, ebenso auch mit Bacterium coli. Er benutzte jedoch nicht die Bauchhöhle des Meerschweinchens, sondern er infizierte das Ohr eines Kaninchens, weil hier sehr gute Beobachtungsmöglichkeiten gegeben seien. Durch die Injektion wurde das Kaninchen-Ohr ödematös; die Ödemflüssigkeit liess sich durch Punktion leicht gewinnen, am besten am zentralsten Teil des Ödems, da hier der Prozess am frischesten sei. Radziewsky gibt nun an, dass er bei Färbung mit einer dünnen Fuchsinlösung (1 : 30 eine Stunde lang) ein deutliches Zugrundegehen der Cokken ausserhalb der Zellen gefunden habe. Bemerkenswert ist, dass gewöhnlich Vermehrung und Untergang von Mikroorganismen einhergeht. Dabei findet allerdings auch Phagocytose statt, aber die Phagocyten nehmen nur die vorher abgetöteten Bakterien auf, sie dienen nur als Ablagerungsstätte. Auch ist die Plagocytose so gering im Vergleich zu der extracellulären Verdauung, dass sie schon deshalb keine besondere Rolle spielen kann.

Römer[2]) beschreibt in seiner letzten Monographie Versuche, die er an der Meerschweinchen-Bauchhöhle mit Pneumocokken angestellt hat. Vor der Infektion der Bauchhöhle versetzt er diese durch Ein-

[1]) Radziewsky. Zeitschr. f. Hyg. Bd. XXXVII. S. 1.

[2]) Loc. cit., siehe S. 5.

spritzung von physiologischer Kochsalzlösung in einen Reizzustand, wodurch die Antikörper des Blutes und die Leukocyten angelockt werden. Dadurch wird erreicht, dass der Vernichtungsprozess in der Bauchhöhle schneller abläuft. Zur Färbung des bei der Punktion gewonnenen Exsudats wird eine stark verdünnte Giemsalösung nach Alkoholfixation empfohlen. Römer beobachtete auf diese Weise sowohl eine extra- als auch eine intracelluläre Zerstörung der Pneumocokken. Eine Hauptrolle spielt die Phagocytose dabei nur gegenüber avirulenten oder wenig virulenten Stämmen.

Schon vor einem Jahre habe ich am bakteriologischen Institut zu Bonn (Prof. Kruse) begonnen, das Schicksal von Pneumocokken im Tierkörper zu studieren. Damals wurden die Beobachtungen an der Bauchhöhle des Meerschweinchens gemacht, jetzt habe ich auch Untersuchungen am Kaninchenauge vorgenommen[1]).

Den Versuchen ging eine Virulenzprüfung des betreffenden Stammes an Mäusen und eine Schutzprüfung mit Pneumocokkenserum voraus.

Virulenzprüfung des Stammes. (Pneumocokken aus Ulcus serpens.)

Maus	infiziert mit Bouillon	Ergebnis
1	$^1/_{10}$	tot nach weniger als 24 Stunden
2	$^1/_{100}$	„
3	$^1/_{1000}$	tot nach etwa 24 Stunden
4	$^1/_{10000}$	bleibt am Leben.

Schutzprüfung mit Römerschem Pneumocokkenserum.

Maus 5, 6 und 7 erhalten je $^1/_2$ ccm einer Serumverdünnung = $^1/_{100}$ des Serums. Infektion mit Pneumocokkenbouillon analog obigem Virulenzversuch.

Maus	infiziert mit Bouillon	Ergebnis
5	$^1/_{10}$	tot nach weniger als 24 Stunden
6	$^1/_{100}$	„ „ „ „ 48 „
7	$^1/_{1000}$	tot nach etwas weniger als 3 Tagen.

Dass bei allen Mäusen nach dem Tode die Sektion vorgenommen und im Herzblut Pneumocokken nachgewiesen wurden, ist selbstverständlich. Eine Schutzwirkung ist hier unverkennbar, wenn schon alle Tiere eingingen. Jedenfalls steht fest — darauf kam es bei dieser Schutzprüfung zunächst

[1]) Als Färbung hat sich mir die in dem Wrightschen Laboratorium angewandte Karbolthioninmischung nach voraufgegangener Sublimatfixierung aufs beste bewährt, die Färbung mit verdünnter Karbolfuchsin- und mit Giemsalösung lieferte nicht entfernt so schöne Bilder. Statt der konzentrierten Sublimatlösung verwende ich eine 1%ige Lösung, die auf das lufttrockene Präparat nur einige Sekunden einwirkt, dann Abspülen, Färbung mit: Karbolwasser 1%, dazu Thionin $^1/_4$% 10 Sekunden lang, Abspülen, Trocknen.

an —, dass das Serum auf diesen Stamm bis zu einem gewissen Grade eingestellt war. Am Meerschweinchen zeigte sich die schützende Kraft ebenfalls sehr deutlich.

Versuch an Meerschweinchen in vivo.

Meerschweinchen Nr. 1 erhält 1 ccm Römersches Pneumocokkenserum subcutan unter die Rückenhaut.

Meerschweinchen 1 und 2 erhalten zugleich eine Aufschwemmung von sterilem Aleuronat (10 %ige in einer $^1/_2$ %igen Kalilaugelösung).

Am nächsten Tag erhielten beide Tiere je 1,5 ccm einer dicken Aufschwemmung der Pneumocokken intraperitoneal. Es wurde eine frische Bouillonkultur der Pneumokokken derselben, deren Virulenz an der Maus festgestellt war, zentrifugiert, das Zentrifugat mit 3 ccm physiologischer Kochsalzlösung aufgeschwemmt und sorgfältig verteilt. Dann wurde bei jedem Tier in verschiedenen Intervallen die Bauchhöhle mit Glaskapillaren punktiert. Das Ergebnis war folgendes:

Nach 15 Minuten:

Meerschweinchen 1. Im Exsudat sehr viele polynukleäre Leukocyten, wenig Lymphocyten. Einige rote Blutkörperchen. Zahlreiche Pneumocokken frei in der Flüssigkeit und zwar eine grosse Anzahl gut gefärbt mit Kapsel, auch einige kurze Ketten mit bis zu höchstens acht Gliedern. Die Kapsel ist zum Teil deutlich aufgequollen. Neben den gut geformten Cokken zahlreiche klumpige, formlose, auch gequollene, meist noch in Kapseln liegende Individuen, die zum Teil gut, zum Teil aber ganz blass gefärbt sind. Keine Phagocytose, nur einzelne suspekte Körnchen in wenigen Leukocyten. Keine Agglutination.

Meerschweinchen 2. Auf den ersten Blick fällt die enorme Zahl der Pneumocokken auf. In jedem Gesichtsfeld durchschnittlich 40 bei Meerschweinchen 1 nur etwa 4). Die Cokken sind gut gefärbt, liegen in Kapseln, bilden lange Ketten, zum Teil bis zu 20 Gliedern. Daneben sehr wenige involvierte, wenige gut gefärbte Cokken. Ganz vereinzelt Phagocytose, die intracellulären Cokken gut gefärbt (in jedem Präparat höchstens 1—2 Zellen, die getroffen haben). Keine Agglutination.

Nach 50 Minuten:

Meerschweinchen 1. Sehr wenig gut gefärbte und gut geformte Cokken in Kapseln. Wenig Ketten mit bis zu sechs Gliedern. Sehr viele degenerierte Cokken, blass bräunlich, klumpig, geschrumpft, vielfach mit geblähter Kapsel. Ganz vereinzelt auch Phagocytose, trotz Vorhandensein sehr vieler Leukocyten. Die intracellulären Cokken sind blass und klein, ohne Kapseln. Viele Lymphocyten mit geschwollenem Protoplasmaleib, aber ohne Cokken.

Meerschweinchen 2. Cokken viel zahlreicher als bei Meerschw. 1. Sehr viele Ketten bis zu 14 Gliedern, viele Kapseln, gute Färbung. Daneben auch einige Involutionsformen. Keine Phagocytose.

Nach drei Stunden:

Meerschweinchen 1. Gut erhaltene und gut gefärbte Cokken überhaupt nicht auffindbar, nur sehr spärliche, blasse, in Kapseln liegende Krümel,

nur hin und wieder noch Lancettform innerhalb der Kapsel, aber die beiden Teile des Diplococcus in der Mitte zusammengeschlossen. Keine Phagocytose, keine Agglutination.

Meerschweinchen 2. Sehr zahlreiche Pneumocokken, in jedem Gesichtsfeld durchschnittlich 120, auffallend viele Ketten bis zu 18 Gliedern. Nur in den Kettencokken wenige klumpige, deformierte, sonst nur gut geformte Cokken. Keine Phagocytose, keine Agglutination.

Nach drei Stunden wird mit dem Exsudat beider Tiere ein bactericider Versuch vorgenommen. Eine Platinöse von dem Peritonealexsudat wird in je 1 ccm steriler Bouillon suspendiert und gut verteilt; von der Bouillon werden je zwei Tropfen auf ein Röhrchen mit verflüssigtem Agar von 45 Grad gebracht, gut verteilt und zu je einer Platte gegossen. Am nächsten Tag waren auf der Platte mit dem Exsudat aus Meerschweinchen 1 (immunisiert) 50 Pneumocokkenkolonien gewachsen, während auf der andern, von dem nichtimmunisierten Tier stammenden Platte 27900 Kolonien gezählt wurden.

Nach 24 Stunden:

Meerschweinchen 1 munter, Temperatur normal; aus der Bauchhöhle kein Exsudat zu gewinnen.

Meerschweinchen 2 in extremis.

Nach 28 Stunden:

Meerschweinchen 1 unverändert.

Meerschweinchen 2 tot. Im Herzblut keine Pneumocokken nachweisbar. Schwere eitrige Peritonitis, im Eiter ganz ungeheuer viele Pneumocokken. Viele Leukocyten. Zahlreiche Phagocytose. Jedoch sind die gefressenen Cokken der Zahl nach viel geringer als die extracellulären. Die intracellulären Cokken sind zum Teil blass, zum Teil auch gut gefärbt und in Kapseln eingeschlossen.

Meerschweinchen 1 wurde noch lange beobachtet, das Tier blieb völlig gesund.

Dieser Versuch zeigt zunächst deutlich die schützende Wirkung des Römerschen Pneumocokkenserums bei Meerschweinchen, während die Schutzwirkung bei weissen Mäusen verhältnismässig gering war.

Das wichtigste Ergebnis aber ist die Tatsache, dass bei dem durch passive Immunisierung geschützten Tier schon 15 Minuten nach erfolgter Infektion eine Abnahme der Cokken durch extracelluläre Bakteriolyse stattfand. Während bei dem nicht geschützten Tier eine enorme Zunahme der Cokken stattfand, die sich durch die Zahl, die Färbbarkeit, durch die meist normalen Formen der Bakterien und durch die Kettenbildung als der Ausdruck einer kräftigen Fortentwicklung darstellt, hatte die Zahl der Cokken im ersten Tier schon

mächtig abgenommen. Dass der Phagocytose bei diesem Zugrundegehen der Cokken eine besondere Bedeutung zukommt, ist ganz ausgeschlossen. Denn wenn wirklich intracelluläre Verdauung eine Hauptrolle spielen sollte, so müsste man entweder annehmen, dass die von den Phagocyten aufgenommenen Bakterien schon so verändert worden sind, dass sie färberisch nicht mehr nachzuweisen waren, oder man müsste sich vorstellen, dass die mit Cokken beladenen Zellen schon nach 15 Minuten aus der Bauchhöhle verschwunden waren. Beides ist aber höchst unwahrscheinlich, insbesondere das Letztere, da sich in dem Exsudat massenhaft celluläre Elemente fanden. Die sichtbaren Veränderungen an den Cokken beweisen deutlich die stattgefundene Bakteriolyse.

Der folgende Versuch ist geeignet, unsere Kenntnisse über die Wirkung des Pneumocokkenserums zu bereichern.

Ein Meerschweinchen wurde mit 1 ccm Pneumocokkenserum immunisiert und zugleich wurde in die Bauchhöhle 4 ccm Aleuronataufschwemmung injiziert. Am nächsten Tage wurde das Zentrifugat von vier frischen Bouillonkulturen der im vorigen Versuch verwandten Pneumocokken - also viermal so viel als im letzten Versuch — in physiologischer Kochsalzlösung aufgeschwemmt einem Meerschweinchen in die Bauchhöhle gespritzt. Die Entnahme des Exsudats mit Glaskapillaren ergab folgende Bilder:

Nach 12 Minuten:

In dem sehr zellreichen Exsudat sehr viele Cokken, etwa durchschnittlich 25 in jedem Gesichtsfeld. Die meisten Cokken sind gut gefärbt, haben eine nicht gequollene Kapsel, Ketten bis zu zwölf Gliedern. Neben den Cokken von normaler Form auch einige geschrumpfte, deformierte Individuen, auch einige blass gefärbte. Phagocytose ist nirgends sicher zu erkennen.

Nach 30 Minuten:

Die Zahl der Cokken ist ungefähr dieselbe geblieben, Ketten bis zu zwölf Gliedern. Sehr spärliche Phagocytose, die intracellulären Cokken sind meist etwas geschrumpft und blasser gefärbt als die andern.

Nach 1 Stunde:

Die Bakterienzahl ist ungefähr die gleiche geblieben, es sind viele gut gefärbte und mit Kapseln versehene Cokken sichtbar, daneben aber auch viele stark degenerativ veränderte, besonders auffallend die vielfach geblähte Kapsel. Hier und da Phagocytose, die gefressenen Cokken sind meist stark degeneriert.

Nach $1^1/_2$ Stunden:

Das Exsudat ist dickflüssiger, sonst kein wesentlicher Unterschied. Vielleicht etwas mehr Phagocytose als zuvor.

Nach 2 Stunden:

Dasselbe Bild, Cokken vielleicht zahlreicher.

Nach $2^1/_2$ Stunden:

Ganz erhebliche Zunahme der Cokken. Dabei auch Phagocytose erkennbar, und zwar in derselben geringen Ausdehnung wie zuvor.

Nach 3 Stunden:

Sehr starke Zunahme der Cokken. Sehr wenig Phagocytose.

Nach 5 Stunden:

Enorme weitere Zunahme der Cokken, wie in einer Reinkultur. Grosse schön geformte Kapseln mit gut gefärbten Cokken. Sehr wenig Phagocytose.

Nach $6^1/_2$ Stunden:

Cokken in ganz grosser Zahl, jedes Gesichtsfeld füllend. Wenig Phagocytose. Viel Schleim. Temperatur des Tieres 38,0.

Injektion von $^1/_2$ ccm Pneumocokken-Serum.

Nach $8^1/_2$ Stunden, also zwei Stunden nach der zweiten Immunisierung: Cokkenzahl hat nicht ab-, eher zugenommen. Keine Phagocytose.

Nach 22 Stunden:

Ganz enorme Pneumocokkenmassen. Viel Schleim. Wenig Phagocytose. Die gefressenen Bakterien sind blass, zum Teil geschrumpft.

Nach 32 Stunden:

Tot. Schwere eitrige Peritonitis, im Herzblut sehr wenig, am Peritoneum enorme Mengen von Pneumocokken.

Hier war also die Pneumocokkendosis zu gross, um durch die passive Immunisierung unschädlich gemacht zu werden. Auch eine erneute Gabe von Immunserum hatte keine Wirkung mehr, nachdem einmal eine deutliche Zunahme der Cokken stattgefunden hat. Die Wirkung des Serums müssen wir uns also so vorstellen, dass sie sofort nach Zustandekommen der Infektion eine extracelluläre Abtötung der Cokken bewirkt. Ist einmal der erste Widerstand überwunden, so geht das Wachstum der Bakterien ungehindert fort. Auch an diesem Versuch wird klar, dass der Phagocytose zur Überwindung der Pneumocokkeninfektion keine hervorragende Bedeutung zukommt. Denn hier ist Phagocytose eingetreten, und dennoch ist das Tier zugrunde gegangen. Bei Meerschweinchen 1, das am Leben blieb, und bei dem die Cokken sich nicht in der Bauchhöhle vermehrten, war weniger Phagocytose nachweisbar als bei dem Tier, das der Infektion erlag. Dass die intracellulären Cokken meist schlecht färbbar und deformiert waren, spricht sehr für die Auffassung, dass die Leukocyten nicht selbständig zu verdauen im stande sind, sondern nur schon vorher zerstörte Bakterien aufnehmen.

Es wurden noch mehrere Versuche angestellt, die in all ihren Einzelheiten aufzuzählen nicht erforderlich ist. Bei zwei Tieren trat die Abnahme der Bakterien, die bei Tier 1 sofort nachweisbar war,

erst vier Stunden nach der Infektion auf. Bei einigen Versuchen wurde in viel reicherem Masse Phagocytose gefunden als bei den beiden hier mitgeteilten, so dass man aus der Kenntnis von diesen allein leicht schliessen könnte, dass die intracelluläre Abtötung den wichtigsten Faktor bei der Überwindung der Infektion bildet. Aber darum sind gerade die beiden hier ausführlich beschriebenen Versuche so wertvoll, weil sie zeigen, dass ohne nachweisbare Abtötung innerhalb der Zellen die Cokken im Wachstum gehemmt und vernichtet werden können. Die Beobachtungen der extracellulär zugrunde gegangenen Cokken weisen deutlich auf die bakteriolytische Zerstörung hin.

War somit durch diese Versuche in vivo die Berechtigung, der Phagocytose die Zerstörung von Pneumocokken zuzuschreiben, nicht gegeben, so fielen ergänzende Reagenzglasversuche ebenfalls negativ aus. Wenn in der Phagocytose das Hauptabwehrmittel des Körpers liegt, so muss ein Immunserum, das eine sicher schützende Wirkung hat, auch im Reagenzglas Phagocytose befördernd wirken. In dem bei den genannten Versuchen benutzten Pneumocokkenstamm hatten wir einen hochvirulenten Pneumococcus, gegen den das Römersche Pneumocokkenserum gut eingestellt war. Es muss also erwartet werden, dass, vorausgesetzt, dass die Metschnikoffsche Lehre auch auf die Pneumocokken Anwendung findet, das Serum eine opsonische Wirkung hat.

Auch bei dieser Prüfung, bei der es sich um den eventuellen Nachweis von bakteriotropen Stoffen handelt, ist es notwendig, zuvor den zu verwendenden Stamm daraufhin zu prüfen, wie er sich der Phagocytose gegenüber verhält. Wie schon erwähnt, findet man gerade unter Pneumocokken die verschiedensten Stämme in bezug auf diesen Punkt. Römer, dem der Nachweis bakteriotroper Stoffe für Pneumocokken im Sinne von Neufeld und Rimpau nicht gelungen ist, spricht sogar die Vermutung aus, dass die Differenzen in den Ergebnissen der Untersuchungen dadurch zu erklären seien, dass viele Untersucher Stämme verwandten, welche von vornherein leicht phagocytabel waren.

Der hier verwandte Stamm war von einem schweren Hornhautulcus gezüchtet und war im Reagenzglas überhaupt nicht phagocytabel.

Das Pneumocokkenserum wurde nicht nur konzentriert, sondern in verschiedenen Verdünnungen zu diesem Versuche angewandt. Auch mit der Brutofenzeit wurden Variationen vorgenommen.

Verdünnungen des Pneumocokkenserums $^1/_2$, $^1/_3$, $^1/_4$, $^1/_5$, $^1/_{10}$, $^1/_{50}$, $^1/_{100}$.

Mischungen in den Wrightschen Kapillaren wurden vorgenommen mit Leukocyten, Pneumocokkenemulsion und je einer dieser Verdünnungen, auch mit unverdünntem Serum und zur Kontrolle mit physiologischer Kochsalzlösung. Ausser dieser Serie wurde eine andere hergestellt mit Zusatz von Normalserum (frisch, falls Komplement nötig ist).

Das Ergebnis aber war überall: keine Phagocytose! Um der Möglichkeit gerecht zu werden, dass der geringe Karbolzusatz, mit dem das Serum konserviert wird, eine Phagocytose hemmende Wirkung hat, wurden Kontrollversuche gemacht mit dem Ergebnis, dass der Karbolzusatz zu einem opsonischen Normalserum keinen Einfluss auf den Ausfall der Phagocytose ausübt.

Es steht hiernach also fest, dass ein Schutzserum denselben Stamm, gegen den es im Tierkörper eine deutliche Schutzwirkung hat, im Reagenzglas nicht opsonisch beeinflusst.

Nach den Anschauungen von Neufeld und Rimpau[1]) müsste dieses Serum auch im Reagenzglas eine opsonische, oder wie diese Autoren die Wirkung des Immunserums nennen, eine bakteriotrope Kraft entfalten.

Da dieser Fall, dass ein Immunserum im Körper schützt, im Reagenzglas aber nicht bakteriotrop wirkt, nicht der einzige ist, sei ein weiterer hier angeführt.

Ein Dysenterie-Schutzserum, das einen Titer von 1 : 2000 hat, wird voll und in Verdünnungen auf seine bakteriotrope Wirkung geprüft.

1. $^1/_{1000}$	A. +	Dysenteriebacillen-Emulsion
2. $^1/_{100}$	B. +	Staphylocokken-Emulsion
3. $^1/_{10}$	+	Leukoc.-Z.
4. $^1/_2$		
5. Voll		
6. Serum-Z.		
7. Physiol. *NaCl*		

Ergebnis:

A.

1.
2.
3.
4. } Keine Phagocytose

5. Fast keine Phagocytose. Phag.-Zahl = 0,04

[1]) Neufeld u. Rimpau. Deutsche med. Wochenschr. S. 1929. 1904. — Zeitschr. f. Hyg. Bd. LI. S. 283. 1905. — Neufeld. Handb. d. pathog. Mikroorg. von Kolle u. Wassermann. Ergbd. II, 2.

6. Sehr kräftige Phagocytose, fast alle Zellen dicht gefüllt. Phag.-Zahl = 7,0
7. Keine Phagocytose.

B.

1.
2.
3. } Keine Phagocytose
4.
5.

6. Starke Phagocytose, fast alle Zellen voll. Phag.-Zahl = 9,7
7. Keine Phagocytose.

Dieses Resultat ergab sich nach einer Brutofenzeit von 20 Min. Derselbe Versuch mit einer Brutofenzeit von 2 Stunden zeigte das negative Ergebnis noch viel klarer, denn bei 6 A. und bei 6 B. hatte die Phagocytose so zugenommen, dass an ein Auszählen der einzelnen Zellen gar nicht zu denken war, in allen andern Kapillaren aber wurde keine Phagocytose festgestellt!

Bei der Serie A. dieses Versuches (Dysenteriebacillen) fiel noch etwas ganz Besonderes auf. Es liess sich in den Ausstrichpräparaten nämlich eine deutliche Abnahme der Bacillen feststellen, und zwar war diese Abnahme um so stärker, je konzentrierter das Serum war. In Nr. 1 ($^1/_{1000}$) waren noch ungefähr ebensoviel Bacillen in jedem Gesichtsfeld sichtbar als in der Kochsalzkontrolle, auch bei 2 und 3 war die Abnahme noch nicht so in die Augen springend, aber bei 4($^1/_2$) und besonders bei 5 (unverdünntes Serum) waren ganz auffallend wenig Bacillen sichtbar. Diese Beobachtung weist darauf hin, dass die baktericide Kraft nicht identisch ist mit der opsonischen. Wäre etwa opsonische Kraft nur eine Art Vorstufe für Bakteriolyse, so hätte man bei den Serumverdünnungen opsonische (bakteriotrope) Wirkung finden müssen, wo noch keine Bakteriolyse eingetreten ist. Von der bakteriolytischen Wirkung des hier verwandten Dysenterieserums konnte ich mich auch sonst in eigens dazu angestellten Versuchen überzeugen. Bakteriolyse trat nur bei Zusatz von Komplement ein.

Über das Verhalten des Glaskörpers gegen künstliche Infektion wissen wir, dass er ziemlich schutzlos den Mikroorganismen preisgegeben ist. Nach Axenfeld[1]) kann man den Glaskörper sogar dazu benutzen, die Virulenz von Eitererregern zu steigern. Axenfeld[1]) hat auch versucht, Kaninchen gegen Glaskörperinfektion mit Pneumokokken zu schützen, dabei zeigte sich, dass der Glaskörper nur in ganz geringem Grade an der Immunisierung teilnimmt.

[1]) Loc. cit., siehe S. 18.

Ich habe jetzt an immunisierten und nichtimmunisierten Kaninchen mit Pneumocokken Glaskörpereiterungen hervorgerufen und durch wiederholte Punktionen festzustellen versucht, was aus den in den Glaskörper eingebrachten Cokken wird.

Kaninchen A. erhält 2 ccm Römersches Pneumocokkenserum subcutan auf dem Rücken. Am nächsten Tag wird Kaninchen A. und Kaninchen B. am rechten Auge mit Pneumocokken geimpft. Eine Platinöse einer frischen Pneumocokkenkultur wurde in 5 ccm physiologischer Kochsalzlösung aufgeschwemmt und gut verteilt. Von dieser Emulsion wurde jedem Tier 0,1 ccm in den Glaskörper injiziert.

Am Tage nach der Infektion hatten beide Tiere eine heftige Iritis, aus dem Glaskörper kam ein gelber Reflex. Einzelheiten waren nicht sichtbar. Am dritten Tag nach der Infektion war die Entzündung bei dem immunisierten Kaninchen A. erheblich stärker als bei dem nicht immunisierten, woraus schon jetzt auf ein Fehlen von Schutzwirkung geschlossen werden konnte. Am vierten Tag wurde bei beiden Tieren in Narkose eine Glaskörperpunktion vorgenommen. Es liess sich bei beiden eine geringe Menge, etwa 0,2 ccm, dicker, eitriger Flüssigkeit ansaugen. Von diesem Eiter wurde je ein Tröpfchen auf ein Agarröhrchen gebracht und auf der Oberfläche verteilt. Am nächsten Tag waren auf beiden Kulturröhrchen üppige Kolonien von Pneumocokken gewachsen. Die mikroskopische Untersuchung des Eiters ergab nach Färbung mit Karbolthionin folgendes.

Kaninchen A.

Viele polynukleäre Leukocyten, spärliche einkernige Lymphocyten. Von Phagocytose ist nirgends etwas sichtbar. Frei in der Gewebsflüssigkeit zahlreiche Pneumocokken. Durchschnittlich befinden sich in jedem Gesichtsfeld 20 Cokken. Viele Pneumocokken liegen in Kapseln, die zum Teil stark vergrössert, gebläht sind. Die Cokken sind zum Teil wohl geformt, ein grosser Teil aber bietet deutliche Degenerationszeichen: sie sind deformiert, krümlig, einige sind auch sehr blass gefärbt; diese Degenerationsformen liegen häufig in Kapseln, kommen aber auch frei vor.

Kaninchen B.

Leuko- und Lymphocyten wie bei A. Ebenfalls keine Phagocytose sichtbar. In den Leukocyten hier, aber auch bei A., sehr kleine Körnchen im Protoplasma. Die Zahl der in jedem Gesichtsfeld durchschnittlich vorhandenen Cokken ist vielleicht etwas grösser als bei A.,

es sind jedoch auffallend viel mehr Degenerationsformen vorhanden. Manchmal sieht man nur ungefärbte Schatten von Cokken, vielfach auch leere Kapseln.

Die nächste Punktion wurde erst nach weiteren fünf Tagen, also neun Tage nach der Infektion vorgenommen.

Kaninchen A.

Auf einer mit der Punktionsflüssigkeit angelegten Agarkultur wachsen am nächsten Tage Pneumocokken. Im Ausstrich viele Eiterzellen, polynukleäre Leukocyten und viele auffallend grosse einkernige Lymphocyten. Keine Phagocytose, auch hier vielfach Körnelungen in den Leukocyten. Viele Pneumocokken, in jedem Gesichtsfeld durchschnittlich fünf. Viele Kapseln, die zum Teil stark gebläht sind. Andeutung von Kettenform, wobei eine grosse mit welliger Linie begrenzte Kapsel die Ketten einschliesst.

Kaninchen B.

Eine Ascitesagar-Kultur, die mit einem Tropfen der Glaskörper-Punktionsflüssigkeit angelegt ist, bleibt steril. Die Zahl der im mikroskopischen Präparat sichtbaren Cokken ist etwas grösser als in dem entsprechenden Präparat von Kaninchen A., jedoch sind gut geformte und gut färbbare Cokken gar nicht sichtbar. Viele Kapseln sind leer, in andern liegen nur kaum noch gefärbte Schatten von Cokken. Viele Cokken sind auch zu krümligen Massen zerfallen, so dass sie als frühere nur daran zu erkennen sind, dass sie in Kapseln liegen, die auch zum Teil deformiert, gequollen und anderseits auch geschrumpft sind. Auch in diesem Präparat ist nichts von Phagocytose zu sehen.

Vierzehn Tage später war bei beiden Tieren die akut entzündliche Phase abgelaufen. Die Augen waren kaum noch rot, aus dem Glaskörper kam ein grauer Reflex, Einzelheiten nicht sichtbar.

Jetzt wurde noch einmal an beiden Tieren eine Glaskörperpunktion vorgenommen. Da stellte sich heraus, dass bei Kaninchen A. noch massenhaft Pneumocokken im Glaskörpereiter nachweisbar waren, die Kultur aber blieb steril. Die Cokken wiesen dieselben Degenerationsformen auf, wie bei der letzten Punktion. Keine Phagocytose.

Soll nun aus diesem Versuch geschlossen werden, dass die Phagocytose gar keine Rolle spielt bei der Überwindung von Glaskörperinfektionen mit Pneumocokken? Zunächst müssen wir uns fragen: hat denn der Körper die Infektion in diesem Falle wirklich überwunden? Die Zerstörung der Gewebe des Auges ist nicht verhindert worden, die Injektionen der Cokken haben Glaskörpereiterungen mit

schweren Schädigungen der Augenhäute gemacht. Aber erstens ist kein Weiterschreiten der Infektion auf den übrigen Körper erfolgt, und zweitens sind ja die Cokken zum Schluss abgetötet worden. Das beweisen die Kulturversuche im Einklang mit den mikroskopischen Bildern. Derselbe Eitertropfen, der im Mikroskop die beschriebenen Degenerationsformen enthält, lässt auch, auf geeigneten Nährboden gebracht — es wurde immer Ascites-Agar verwandt —, diesen steril. Also abgetötet sind die Cokken worden und zwar ohne nachweisliche Phagocytose. Wir sind deshalb wohl berechtigt, auch aus diesem Versuche ebenso wie aus den an Meerschweinchen vorgenommenen zu schliessen, dass Pneumocokken im Tierkörper ohne Phagocytose abgetötet werden können.

Als Nebenbefund ist bei diesem Versuch zu erwähnen die Tatsache, dass die Infektion bei dem passiv immunisierten Tier schwerer verlief als bei dem nicht immunisierten. Es handelte sich nämlich um einen Pneumocokkenstamm, gegen den das Römersche Serum wirkungslos war. Das ergab auch die Prüfung an Mäusen: die Mäusevirulenz dieses Stammes war sehr gering, 1/10 Bouillon tötete nicht, erst eine um die Hälfte verdünnte Bouillon tötete eine weisse Maus in 24 Stunden. Gegen diese tödliche Dosis aber schützte das Serum nicht.

Bei den Versuchen, welche zur Aufgabe hatten, festzustellen, ob sich in den zu untersuchenden Flüssigkeiten (Tränen, Kammerwasser) Opsonine finden oder nicht, ist immer einfach von Opsoninen gesprochen worden, ohne dabei darauf Rücksicht zu nehmen, ob die nachgewiesenen Opsonine nur gegen dieses oder jenes Bacterium wirksam sind, oder ob alle in Betracht kommenden Bakterien in gleicher Weise opsoniert werden. Mit andern Worten, es wurde stillschweigend angenommen, dass eine Zunahme der Opsonine gleichbedeutend ist mit einer Zunahme für alle gut opsonierbaren Bakterien. Bei den Versuchen mit dem Kammerwasser wurden Reize angewandt, welche nicht erwarten lassen konnten, dass sie eine irgendwie spezifische Art von Opsoninen anlocken würden. Wie steht es nun aber, wenn wir zum Anlocken der Opsonine einen durch Infektion mit einem Bacterium veranlassten Reiz wählen? Werden dann nur solche Opsonine angelockt werden, die sich nur gegen dasjenige Bacterium richten, welches die Infektion verursacht hat? Mit andern Worten: werden wir durch bakterielle Infektion die Spezifität der Opsonine nachweisen können?

Als ersten Versuch, auf diesem Wege Klarheit zu schaffen, habe ich bei einem Kaninchen mit einer sterilen Lanze eine Horn-

hauttasche gebildet und in diese eine Platinöse von Staphylocokkenreinkultur gebracht. In der Erwartung, dass die Cokken eine entzündliche Infiltration mit geschwürigem Zerfall machen würden, sollte dann das Kammerwasser untersucht werden. Wenn die durch den entzündlichen Reiz angelockten Opsonine spezifisch sind, so müssen bei der opsonischen Prüfung des Kammerwassers die gegen die Staphylocokken gerichteten Opsonine quantitativ alle andern übertreffen.

Bei diesem Vorgehen aber gelang es trotz wiederholter Impfungen nicht, ein Ulcus zu erzeugen, da die Cokken nicht genügende Virulenz besassen. Es entstand nicht einmal eine Rötung oder Lichtscheu oder dergleichen. Man sah am nächsten Tage immer noch die Kulturmasse als grauen Körper in der mit der Lanze gebildeten Hornhauttasche liegen. Nach einigen Tagen verkleinerte sich allmählich die graue Masse, um später nur einen matten Hornhautfleck zu hinterlassen.

Diese Befunde gaben eine willkommene Gelegenheit, der Frage näher zu treten: wie überwindet das Auge diese nicht virulenten Cokken?

Liegen die Verhältnisse so, dass der Körper den Mikroorganismen die entsprechenden, spezifischen Antikörper entgegenschickt, so dass keine Weiterentwicklung stattfinden kann — dann müsste man in unserm Falle in der Vorderkammer spezifische Antikörper finden —, oder kommt es deshalb zu keiner Entzündung und weiteren Gewebsschädigung, weil den Mikroorganismen selbst die nötigen Kampfmittel, die Aggressine fehlen, um überhaupt im stande zu sein, im Körper schädigend vorzudringen und sich zu vermehren?

Es wurde das Kammerwasser nach diesen Staphylocokkeninfektionen wiederholt untersucht und zwar gegen Staphylocokken, Dysenteriebacillen und gegen Tuberkelbacillen. Niemals liess sich eine opsonische Wirkung nachweisen. Zur Kontrolle wurde jedesmal einerseits ein sicher opsonisches Serum und physiologische Kochsalzlösung verwandt.

Daraus geht hervor, dass die Cokken als unschädlicher Fremdkörper der Hornhaut aufgelegen haben und nicht durch eine Anhäufung von Antikörpern erst abgetötet worden sind.

Das ist von prinzipieller Wichtigkeit aus folgenden Gründen.

Wie eingangs auseinandergesetzt, nimmt die Aggressintheorie an, dass die Virulenz von Bakterien auf Stoffen beruht, welche den Mikroorganismen als Kampfmittel dienen; diese Stoffe sind die Aggressine.

Anderseits erledigt sich der Körper seiner Feinde, der Bakterien, dadurch, dass er die Aggressine unschädlich macht. Nach der Opsonintheorie — hierin begegnen sich Aggressin- und Opsoninlehre — werden die Aggressine durch Stoffe unschädlich gemacht, welche die Bakterien so beeinflussen, dass sie von den Leukocyten leichter aufgenommen werden können; diese Stoffe sind die Opsonine, in diesem Zusammenhang Antiaggressine genannt. Nun wissen wir aber von den Staphylocokken (der in meinen Versuchen verwandte Stamm ist oft daraufhin untersucht worden), dass sie durch Blutserum, auch durch das Serum des Kaninchens, sehr gut opsoniert werden. Sind die Opsonine aber wirklich nichts anderes als Antiaggressine, so muss man von einem Stamm, der in ganz auffälliger Weise den Antiaggressinen zugänglich ist, erwarten, dass er Aggressine bildet, die man durch die Antiaggressine nachweisen kann. Hier ist aber diese Forderung nicht erfüllt. Antiaggressine sind da, aber sie sind nicht als Gegenstoffe für Aggressine, sondern als a priori vorhandene, dem Blutserum eigene Stoffe zu finden, welche unter besonderen Umständen auch in das Kammerwasser kommen können. Wir haben also, darauf sei nochmals hingewiesen, Bakterien, welche unschädlich sind, ohne dass sich als Grund für die Unschädlichkeit Antiaggressine nachweisen lassen. Anderseits gibt es für diese Bakterien Antiaggressine, zur Überwindung einer Infektion bedient sich der Körper ihrer aber nicht.

Es soll mit diesen Betrachtungen nicht die Aggressintheorie in Frage gezogen werden, es muss aber doch darauf hingewiesen werden, dass hier ein Punkt zutage tritt, der nicht ganz in den Rahmen der neuern Anschauungen hineinpasst.

Die eben besprochenen Versuche wurden, wie gesagt, mit unschädlichen Staphylocokken vorgenommen. Des weiteren aber wurden auch Bakterien zur Impfung benutzt, welche Hornhautulcera hervorrufen. Mit Dysenteriebacillen gelang es leicht, in der üblichen Weise ein Hornhautgeschwür zu erzeugen. In dem nächsten hier wiederzugebenden Versuch trat eine heftige Iritis schon am nächsten Tag auf, das Hornhautgeschwür war 2 mm gross und hatte ausgesprochenen eitrigen Charakter. Am zweiten Tag nach der Impfung wurde das Kammerwasser entnommen.

1. Serum Z.			
2. „ Kaninchen		A. + Staphylocokken	+ Leukoc.-Z.
3. K.-W. „	mit Ulcus	B. + Dysenteriebacillen	20 Min. 37,5°
4. Physiol. *NaCl*			

Ergebnis:

A.

1. Starke Phagocytose, von 100 Zellen haben 60 gut gefressen
2. „ „ „ 100 „ „ 52 z. T. gut gefressen.
3. Starke „ „ 100 „ „ 62 gut gefressen.
4. Keine „

B.

1. Sehr starke Phagocytose, fast alle Zellen voll.
2. Starke „ über die Hälfte der Zellen voller Bakterien.
3. Keine „ !
4. Keine „

Hier ist das Gegenteil eingetreten von dem, was zu erwarten war für den Fall, dass die Infektion mit Dysenteriebacillen spezifische Antikörper (also auch spezifische Opsonine) in die vordere Augenkammer angelockt hat. Opsonine sind nach der Infektion nachgewiesen, aber nicht für die Erreger des Ulcus, sondern für andere Bakterien, für Staphylococcken. Dieses Ergebnis kann so gedeutet werden, dass die Dysenteriebacillen eine so starke Aggressivität entfaltet haben, dass der Körper ihnen keine lebenskräftigen Antiaggressine entgegenstellen konnte. Die Punktion der Vorderkammer — so könnte man sich vorstellen — ist zu einer Zeit gemacht worden, wo die Aggressine noch das Übergewicht über die Opsonine (Antiaggressine) hatten. Deshalb fanden sich keine Opsonine für die Dysenteriebacillen. Dass Opsonine für Staphylococcken gefunden wurden, wäre ungezwungen dadurch zu erklären, dass der durch das Ulcus entstandene Reiz wie jeder andere das Auge treffende Reiz Opsonine angelockt hat.

Wenn diese Auffassung richtig ist, so musste das Kammerwasser, das frei von Opsoninen gefunden wurde, Aggressine enthalten, die ja die Ursache für die Zurückhaltung der Opsonine sein müssen. Darüber gibt der nächste Versuch Auskunft.

1. Serum-Z. + physiol. *NaCl* aa. } + Dysenteriebacillen
2. „ „ + K.-W. Kan. mit Ulcus aa. } + Leukoc.-Z. Brutofen
(zuvor jedes 1 Stde. lang im Brutofen) } 20 Min.

Ergebnis:

1. Starke Phagocytose, etwa die Hälfte der Zellen hat gefressen.
2. Starke Phagocytose, mehr als die Hälfte der Zellen hat gefressen.

Daraus geht hervor, dass das Kammerwasser keine aggressive Wirkung gehabt, wenigstens nicht eine antiopsonische Kraft entfaltet

hat. Denn das Serum, das eine Zeitlang bei Brutofentemperatur mit dem Kammerwasser zusammengebracht war, ist in seiner opsonischen Kraft nicht gehindert worden, wie die Kochsalzkontrolle beweist. Somit ist es durch diesen Versuch nicht wahrscheinlich gemacht, dass die Überwindung der Hornhautinfektion mit Dysenteriebacillen durch Opsonine zu stande kommt.

Zur weiteren Aufklärung wurde nun dasselbe Kammerwasser, das sich, wie eben gezeigt, als opsoninhaltig für Staphylocokken, nicht aber für Dysenteriebacillen erwies, auf baktericide Stoffe hin untersucht.

1. Serum eines normalen Kaninchens.
2. K.-W. Kaninchen mit Ulcus.
3. K.-W. desselben Kaninchens von dem gesunden Auge.
4. physiol *NaCl*-Lösung.

Hiervon je 2 Tropfen + je 1 Tropfen einer Dysenteriebouillon (gleichmässig verteilt) 3 Stunden in den Brutofen. Zur Kontrolle einer Platte sofort gegossen von reiner Dysenteriebouillon.

Ergebnis. Kolonienzahl der Platten nach 24 Stunden:

1. 0 Kolonien.
2. 1650 „
3. 5250 „
4. 1350 „

Kontrolle: 20000 Kolonien (abgerundet).

Daraus geht hervor, dass das Kaninchenserum die grösste baktericide Kraft entfaltet hat. Auch in der physiologischen Kochsalzlösung ist eine Wachstumhemmung nachzuweisen. Das Kammerwasser hat aber sicher auch eine hemmende Wirkung gezeigt, wie aus der Kontrollplatte hervorgeht, welche die Zahl der zur Aussaat gelangten Keime angibt.

Da nun, das sei hier hinzugefügt, das Ulcus in einigen Tagen spontan abheilte, so ist anzunehmen, dass bei der Heilung baktericide und nicht opsonische (antiaggressive) Stoffe mitgewirkt haben.

Noch ein weiterer Versuch muss hier genannt werden, weil er ebenfalls angestellt war, um über die Spezifität der Opsonine Aufklärung zu verschaffen.

Einem Kaninchen wurde eine dicke Staphylocokkenemulsion in den Glaskörper gespritzt, die Menge der injizierten Flüssigkeit betrug 0,1 ccm. Die Injektion wurde mit der von Axenfeld empfohlenen Liebergschen Mikrospritze ausgeführt, ohne vorher das Kammerwasser abzulassen. Nach einer halben Stunde zeigten sich stark ent-

zündliche Erscheinungen, Lichtscheu, Rötung und Chemose. Die vordere Kammer wurde jetzt punktiert; ein mit dem vorderen Kammerwasser angestellter Opsoninversuch verlief negativ. Nach drei Tagen waren die akut entzündlichen Erscheinungen abgelaufen, der Bulbus war nur noch wenig gerötet, aus dem Augeninneren kam ein mattgrauer Reflex, Einzelheiten waren nicht zu sehen. Nach fünf Tagen bot sich ungefähr dasselbe Bild. Jetzt wurde eine Punktion des Glaskörpers vorgenommen. Ein Teil der Punktionsflüssigkeit wurde auf ein Agarröhrchen gebracht, ein anderer auf einem Objektträger ausgestrichen und mit Karbolthionin gefärbt, ein dritter Teil endlich wurde zentrifugiert, das Obenstehende von dem Zentrifugat abgehoben und zu einem Phagocytoseversuch verwandt.

Dieser mit der zentrifugierten Glaskörperflüssigkeit vorgenommene Phagocytoseversuch wurde nicht nur mit denselben Staphylocokken vorgenommen, mit welchen der Glaskörper infiziert war, sondern zur Kontrolle auch mit einem Pneumocokkenstamm, der mit Serum gut phagocytabel war und in geringem Masse einer Spontanphagocytose unterlag. Das Ergebnis dieses Versuches war, dass die zentrifugierte Glaskörperflüssigkeit sowohl die Staphylocokken als auch die Pneumocokken in gleichem Masse opsonierte. Dass die Opsonierung beider Cokken sich quantitativ nicht wesentlich voneinander unterschied, ging aus den Vergleichen mit dem Opsoningehalt des Serums hervor, das zum Vergleich mit geprüft wurde. Der Opsoningehalt war gegenüber beiden Stämmen ungefähr so hoch wie der des Serums.

Auch dieser Versuch ist nicht geeignet, die Spezifität der Opsonine zu beweisen.

Zusammenfassung.

1. Die Tränenflüssigkeit enthält weder baktericide Substanzen noch Opsonine.

2. Das Vorderkammerwasser normaler, nicht gereizter Augen (Kaninchen, Hund und Mensch) enthält keine baktericiden Stoffe und keine Opsonine. Nach einmaligem Ablassen des Kammerwassers tritt in dem zweiten, Ersatzkammerwasser, baktericide und opsonische Kraft zutage. Ebenso treten Opsonine in die vordere Augenkammer bei den verschiedensten Reizzuständen des Auges über. Diese durch Reizung hervorgerufene Ansammlung von Opsoninen steht quantitativ erheblich zurück hinter der opsonischen Kraft des Blutserums. Dioninreizung ruft geringere opsonische Wirkung im Kammerwasser hervor als subconjunctivale Kochsalzinjektionen.

3. Die Abtötung von Pneumocokken in der Bauchhöhle des Meerschweinchens und im Glaskörper des Kaninchens kann ohne nachweisbare Phagocytose allein durch Bakteriolyse herbeigeführt werden.

4. Bei zwei sicher wirkenden Immunseris liess sich weder im Tierkörper noch im Reagenzglas eine bakteriotrope Wirkung feststellen.

5. Die nach Hornhaut- und Glaskörperinfektionen auftretenden Opsonine sind nicht spezifisch.

Zum Schlusse dieser Arbeit erlaube ich mir, meinem hochverehrten Chef, Herrn Geheimrat Wagenmann, für die Förderung und das Interesse, das er der Arbeit entgegengebracht hat, meinen herzlichsten und ergebensten Dank auszusprechen.

Druck von Poeschel & Trepte in Leipzig.